

**EKSPLORASI BAKTERI DARI LIMBAH CAIR TAHU DAN  
POTENSI ANTAGONISNYA TERHADAP *Sclerotium rolfsii*  
PENYEBAB PENYAKIT REBAH SEMAI SECARA *IN VITRO***

**Oleh**

**JENNEFER FRANSISCA SIMBOLON**



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
FAKULTAS PERTANIAN  
MALANG  
2018**

**EKSPLORASI BAKTERI DARI LIMBAH CAIR TAHU DAN  
POTENSI ANTAGONISNYA TERHADAP *Sclerotium rolfsii*  
PENYEBAB PENYAKIT REBAH SEMAI SECARA *IN VITRO***

**OLEH  
JENNEFER FRANSISCA SIMBOLON**

**145040201111284**

**MINAT STUDI PERLINDUNGAN TANAMAN  
PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI**

**SKRIPSI**

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh  
Gelar Sarjana Pertanian Strata Satu (S-1)**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
FAKULTAS PERTANIAN  
JURUSAN HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN  
MALANG  
2018**

### PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa segala pernyataan dalam skripsi ini merupakan hasil penelitian saya sendiri, dengan bimbingan komisi pembimbing. Skripsi ini tidak pernah diajukan untuk memperoleh gelar di suatu perguruan tinggi manapun dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang dengan jelas ditunjukkan rujukannya dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Malang, Oktober 2018

Jennefer Fransisca Simbolon



**LEMBAR PERSETUJUAN**

Judul Penelitian : Eksplorasi Bakteri dari Limbah Cair Tahu dan Potensi Antagonisnya terhadap *Sclerotium rolfsii* Penyebab Penyakit Rebah Semai Secara *In Vitro*

Nama Mahasiswa : Jennefer Fransisca Simbolon

NIM : 145040201111284


Jurusan : Hama dan Penyakit Tumbuhan

Program Studi : Agroekoteknologi

**Disetujui**

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,



Dr. Anton Muhibuddin, SP., MP.  
NIP. 19771130 200501 1 002



Antok Wahyu S., SP., MP.  
NIP. 201304 841014 1 001

Diketahui,  
Ketua Jurusan  
Hama dan Penyakit Tumbuhan



Dr. Ir. Ludji Pantia Astuti, MS.  
NIP. 19551018 198601 2 001

**Tanggal Persetujuan :**



## LEMBAR PENGESAHAN

Mengesahkan

### MAJELIS PENGUJI

Penguji I



Dr. Ir. Toto Himawan, SU.  
NIP.19551119 198303 1 002

Penguji II



Antok Wahyu Sektiono, SP., MP.  
NIP. 201304 841014 1 001

Penguji III



Dr. Anton Muhibuddin, SP., MP.  
NIP. 19771130 200501 1 002

Penguji IV



Dr. Ir. Mintarto Martosudiro, MS.  
NIP. 19590705 198601 1 003

Tanggal Lulus : 31 OCT 2018



*Skripsi ini saya persembahkan untuk  
Kedua orangtua tercinta serta kedua kakak dan adik-  
adikku tersayang yang selalu mendoakan dan mendukungku.*

## RINGKASAN

**Jennefer Fransisca S. 145040201111284. Eksplorasi Bakteri dari Limbah Cair Tahu dan Potensi Antagonisnya terhadap *Sclerotium rolfsii* Penyebab Penyakit Rebah Semai Secara *In Vitro*. Dibawah bimbingan Dr. Anton Muhibuddin, SP., MP. sebagai Pembimbing Utama dan Antok Wahyu S., SP., MP. sebagai Pembimbing Pendamping.**

---

Pengendalian penyakit tanaman selama ini masih dilakukan secara konvensional yakni penggunaan fungisida kimia. Namun dalam pengaplikasiannya, petani cenderung menggunakan dosis yang kurang tepat sehingga menyebabkan dampak negatif salah satunya yaitu pencemaran lingkungan. Salah satu upaya untuk menghindari pencemaran lingkungan akibat penggunaan pestisida sintetis adalah melalui pemanfaatan agen hayati. Pemanfaatan agen hayati yang relatif ramah terhadap lingkungan dapat dilakukan dengan menggunakan bakteri antagonis. Agens hayati seperti bakteri dapat ditemukan di berbagai tempat salah satunya adalah limbah cair tahu. Oleh karena itu dilakukan eksplorasi bakteri dari limbah cair tahu yang berpotensi sebagai agens antagonis *S. rolfsii* pada tanaman kedelai.

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya dan di Kelurahan Sumbersari, Kecamatan Lowokwaru Kota Malang dimulai pada bulan Maret hingga bulan Agustus 2018. Tahapan penelitian yaitu pengambilan sampel limbah cair tahu, isolasi dan purifikasi bakteri, seleksi bakteri antagonis, uji penghambatan pertumbuhan patogen *S. rolfsii* secara *in vitro*, dan identifikasi bakteri.

Hasil isolasi bakteri limbah cair tahu diperoleh 30 isolat bakteri dan terdapat 9 isolat bakteri yang bersifat antagonis terhadap patogen *S. rolfsii*. Dari 9 isolat bakteri dipilih 6 isolat yang memiliki penghambatan terbesar untuk dilakukan uji antagonis terhadap jamur patogen *S. rolfsii*. Keenam isolat bakteri tersebut adalah isolat T3, T5, T21 tergolong dalam genus *Bacillus* sp., isolat T4, T9 dan T10 tergolong dalam genus *Pantoea* sp. Isolat bakteri yang memiliki penghambatan tertinggi pada uji *in vitro* yaitu isolat T9 sebesar 63,33% yang termasuk dalam genus *Pantoea* sp.

## SUMMARY

**Jennefer Fransisca S. 145040201111284. Bacteria Exploration From Tofu Wastewater And Antagonic Potential On *Sclerotium rolfsii* Cause of Damping Off With In Vitro Method. Supervised by Dr. Anton Muhibuddin, SP., MP., and Antok Wahyu S., SP., MP.**

---

Nowadays, plant diseases controlling has been carried out conventionally, which is the use of chemical fungicides. But in its application, farmers tend to use inappropriate doses, causing negative impacts such as environmental pollution. One thing to do to avoid the environmental pollution that caused by synthetic pesticides is through the utilization of biological agents. The utilization of biological agents by using antagonist bacteria are relatively environmental friendly. Biological agents such as a bacteria can be found in various places, one of which is tofu wastewater. It makes the bacterial exploration from tofu wastewater that has a potentially *S.rolfsii*, the antagonist agent that caused damping off.

The research was conducted at Plant Disease Laboratory of Agriculture Faculty Brawijaya University and Sumber Sari Village, Lowokwaru Malang started at March until August 2018. The research phase is the sampling of tofu wastewater, bacteria isolation and purification, antagonist bacteria selection, pathogen *S. rolfsii* growth inhibition in vitro test, and bacteria identification.

The results of tofu wastewater isolation is obtained 30 bacterial isolates. There were 9 isolates bacteria that antagonist with pathogen *S. rolfsii*. From the 9 isolates of bacteria, 6 isolates bacteria was selected, that have the greatest inhibition, then tested in vitro test. The six bacterial isolates is T3, T5, and T21 isolate, included to the genus *Bacillus*, T4, T9 and T10 isolate were included to the genus *Pantoea*. Bacterial isolates that had the highest inhibition in vitro test was isolate T9 amount 63,33 % which included to the genus *Pantoea*.

## RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Tebing Tinggi, pada tanggal 26 Januari 1997 dari pasangan Bapak Effendi Simbolon dan Ibu Julita Murniati Simanjuntak. Penulis merupakan anak ketiga dari lima bersaudara. Penulis menempuh pendidikan dasar di SDN 102088 Kecamatan Tebing Tinggi pada tahun 2002 dan lulus pada tahun 2008, pendidikan sekolah menengah pertama diselesaikan di SMPN 1 Tebing Tinggi pada tahun 2009 dan sekolah menengah atas di SMAN 4 Tebing Tinggi pada tahun 2011. Pada tahun 2011 penulis terdaftar sebagai mahasiswa Strata 1 Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya Malang, Jawa Timur melalui jalur seleksi Undangan.

Selama menjadi mahasiswa penulis aktif dalam organisasi fakultas yaitu Unit Kegiatan Mahasiswa Kristen (UKMK) Christian Community sebagai Pengurus Bidang II (Acara) pada tahun 2016. Penulis pernah aktif sebagai panitia tingkat fakultas meliputi Perayaan Natal *Christian Community* 2014 sebagai divisi Humas, Perayaan Paskah 2015 sebagai divisi Musik, Penyambutan Mahasiswa Baru Retreat *Christian Community* 2015 sebagai divisi Musik, Perayaan Natal *Christian Community* 2016 sebagai divisi Konsumsi, Penyambutan Mahasiswa Baru Retreat *Christian Community* 2017 sebagai divisi Acara, Perayaan Natal *Christian Community* 2017 sebagai *Sharing Committee* (SC). Selain itu penulis juga pernah melaksanakan magang kerja di Wisata Petik Jambu Kristal Bumiaji pada tahun 2017.

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas berkat dan kasihNya penulis dapat menyelesaikan laporan penelitian dengan judul “Eksplorasi Bakteri dari Limbah Cair Tahu dan Potensi Antagonisnya terhadap *Sclerotium rolfsii* Penyebab Penyakit Rebah Semai Secara *In Vitro*”. Disusun untuk memenuhi kewajiban Program Studi Agroekoteknologi Universitas Brawijaya dalam menyelesaikan program sarjana (S1). Penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Dr. Anton Muhibuddin, SP., MP. selaku dosen pembimbing utama dan Antok Wahyu Sektiono, SP., MP. selaku dosen pembimbing pendamping atas segala nasihat, arahan dan bimbingannya kepada penulis dalam penyusunan laporan penelitian ini
2. Dr. Ir. Ludji Pantja Astuti, MS. selaku ketua Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang.
3. Kedua orang tua, Papa Effendi Simbolon dan Mama Julita M. Simanjuntak serta kedua kakak dan adik penulis yaitu Nella C. Simbolon, SE., Tina M. Simbolon, SP., Ruth O. Simbolon., dan Jeremi Simbolon yang selalu memberikan bimbingan, bantuan, kasih sayang, doa dan motivasi kepada penulis.
4. Terimakasih kepada sahabat penulis Kristi F. Ginting, Elsa M. Malau, Swella P. Sitanggang, Cindy L. Candra, , Iva R. Sihalohe, Yaman U. Nasution, Ken N. Sirait, Erta C. Situmorang, Baren L. Silalahi, Nella S. Silaban, Hizkia Y. Alfredo dan teman-teman dari Persekutuan Mahasiswa Kristen *Christian Community*, NHKBP Malang, dan laboratorium Penyakit Tumbuhan 1 yang telah memberikan doa, bantuan dan motivasi yang diberikan kepada penulis.

Semoga skripsi ini dapat bermanfaat dan berguna bagi pembaca terutama mahasiwa Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Universitas Brawijaya Malang. Penulis berharap pemikiran berupa saran yang membangun sebagai koreksi untuk penulisan ini yang lebih baik.

Malang, Oktober 2018

Penulis

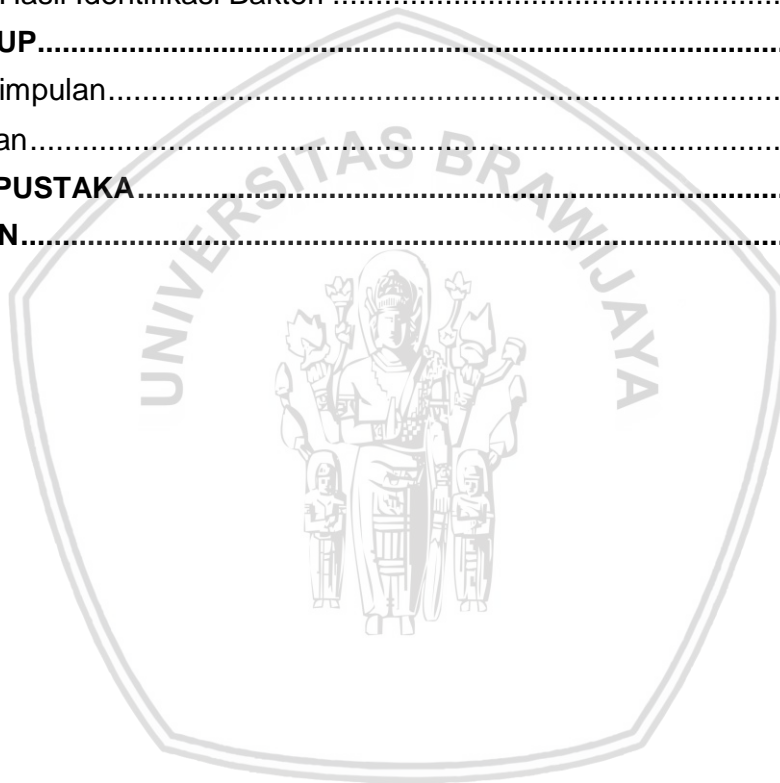


## DAFTAR ISI

<b>RINGKASAN .....</b>	<b>i</b>
<b>SUMMARY .....</b>	<b>ii</b>
<b>RIWAYAT HIDUP .....</b>	<b>iii</b>
<b>KATA PENGANTAR .....</b>	<b>iv</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>v</b>
<b>DAFTAR GAMBAR .....</b>	<b>vii</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>viii</b>
<b>1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Tujuan Penelitian .....	2
1.3 Hipotesis Penelitian .....	2
1.4 Manfaat Penelitian .....	2
<b>2. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>3</b>
2.1 <i>Sclerotium rolfsii</i> .....	3
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi <i>S. rolfsii</i> .....	3
2.1.2 Gejala Serangan Penyakit Rebah Semai Pada Kedelai .....	4
2.1.3 Faktor yang Mempengaruhi Perkembangan Penyakit <i>S. rolfsii</i> .....	5
2.1.4 Pengendalian Penyakit Rebah Semai pada Kedelai .....	5
2.2 Agens Hayati .....	6
2.3 Bakteri Antagonis .....	6
2.4 Limbah Cair Tahu .....	7
<b>3. METODOLOGI PENELITIAN .....</b>	<b>8</b>
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian .....	8
3.2 Alat dan Bahan .....	8
3.3 Pelaksanaan Penelitian .....	8
3.3.1 Isolasi dan Purifikasi Jamur Patogen <i>S. rolfsii</i> .....	8
3.3.2 Pengambilan Sampel Limbah Cair Tahu .....	9
3.3.3 Isolasi dan Purifikasi Bakteri dari Limbah Cair Tahu .....	9
3.3.4 Seleksi Bakteri yang bersifat Antagonis terhadap Patogen <i>S. rolfsii</i> .....	9
3.3.5 Uji Penghambatan Pertumbuhan Patogen <i>S. rolfsii</i> secara <i>in vitro</i> .....	10
3.3.6 Identifikasi dan Karakterisasi Bakteri Antagonis Limbah Cair Tahu ....	11
3.4 Analisis Data .....	13



<b>4. HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	<b>14</b>
4.1 Isolasi Jamur <i>Sclerotium rolfsii</i>	14
4.2 Isolasi Bakteri dari Limbah Cair Tahu	15
4.3. Seleksi Bakteri yang Bersifat Antagonis terhadap Patogen <i>S. rolfsii</i>	16
4.4 Uji Penghambatan Pertumbuhan Patogen <i>S. rolfsii</i> secara <i>in vitro</i>	17
4.5 Karakteristik dan Identifikasi Bakteri Limbah Cair Tahu	19
4.5.1 Karakteristik Morfologi Koloni	19
4.5.2 Karakteristik Fisiologi dan Biokimia	21
4.5.3 Hasil Identifikasi Bakteri	25
<b>5. PENUTUP</b>	<b>29</b>
5.1 Kesimpulan	29
5.2 Saran	29
<b>DAFTAR PUSTAKA</b>	<b>30</b>
<b>LAMPIRAN</b>	<b>34</b>



## DAFTAR GAMBAR

Nomor	Teks	Halaman
1	Hubungan apit ( <i>clamp connection</i> ) pada percabangan hifa utama .....	4
2	Pertumbuhan hifa dan produksi <i>Sclerotium rolfsii</i> di media kentang .....	4
3	Pola penempatan seleksi bakteri antagonis dan patogen pada cawan....	
	.....	10
4	Uji penghambatan pertumbuhan patogen <i>S. rolfsii</i> secara <i>in vitro</i> .....	11
5	Makroskopis <i>S. rolfsii</i> .....	14
6	Mikroskopis <i>S. rolfsii</i> .....	14
7	Hasil isolasi bakteri.....	15
8	Seleksi Bakteri Antagonis.....	17
9	Daya Hambat Bakteri Antagonis.....	19
10	Mikroskopis koloni bakteri T4 .....	20
11	Hasil uji hipersensitif pada daun tembakau.....	21
12	Hasil uji KOH.....	22
13	Hasil sel bakteri perbesaran 100 kali .....	23
14	Hasil pewarnaan spora.....	23
15	Hasil Uji OF isolat T3.....	24
16	Hasil uji media YDC.....	25
17	Hasil Uji Katalase pada preparat. ....	25
	Lampiran	
1.	Hasil seleksi bakteri antagonis .....	35
2.	Hasil uji hipersensitif.....	36
3.	Hasil pengamatan morfologi bakteri antagonis .....	36
4.	Hasil uji <i>in vitro</i> .....	37
5.	Hasil uji pewarnaan spora .....	37
6.	Hasil uji KOH 3%.....	38
7.	Hasil Uji Gram bakteri .....	38
8.	Hasil uji oksidatif fermentatif .....	39
9.	Hasil pertumbuhan koloni kuning pada Media YDC .....	39
10.	Diagram pengujian bakteri hingga tingkat genus .....	40

## DAFTAR TABEL

Nomor	Teks	Halaman
1	Perlakuan uji penghambatan jamur patogen <i>S. rolfsii</i> secara in vitro. ....	10
2	Persentase penghambatan bakteri terhadap patogen <i>S. rolfsii</i> .....	16
3	Rerata diameter miselia patogen <i>S. rolfsii</i> terhadap bakteri antagonis..	18
4	Karakteristik morfologi koloni bakteri antagonis .....	19
5	Karakteristik fisiologi dan biokimia bakteri antagonis .....	21
6	Hasil identifikasi bakteri antagonis .....	26

## Lampiran

1	Analisis ragam persentase daya hambat pertumbuhan jamur <i>S. rolfsii</i> umur 12 JST .....	34
2	Analisis ragam persentase daya hambat pertumbuhan jamur <i>S. rolfsii</i> umur 24 JST .....	34
3	Analisis ragam persentase daya hambat pertumbuhan jamur <i>S. rolfsii</i> umur 36 JST .....	34
4	Analisis ragam persentase daya hambat pertumbuhan jamur <i>S. rolfsii</i> umur 48 JST .....	34
5	Analisis ragam persentase daya hambat pertumbuhan jamur <i>S. rolfsii</i> umur 60 JST .....	34

## DAFTAR PUSTAKA

- Abidin, Z., L. Q. Aini., A. L. Latief. 2015. Pengaruh Bakteri *Bacillus* sp. Terhadap Pertumbuhan Jamur Patogen *Sclerotium rolfsii* Sacc. Penyebab Penyakit Rebah Semai Pada Tanaman Kedelai. Jurnal HPT. 3(1): 1-10.
- Agrios, G. N. 2005. Plant Pathology. Fifth Edition. Elsevier Academic Press, California: 593-599.
- Agrios. G. N. 2008. Fitopatologia 5 ed Elsevier Academic. Press. 984p.
- Algadrie, Y. S. 2002. Kajian Kualitas Lingkungan yang Ditimbulkan Limbah Cair Tahu dan Evaluasi Sistem Unit Pengolahan Limbah di Dusun Gerso Desa Trimurti Kecamatan Srandakan Kabupaten Bantul. Tesis. Magister Pengelolaan Lingkungan Universitas Gajah Mada. Yogyakarta.
- Aliah, N. U., L. Sulistyowati, A. Muhibuddin. 2015. Hubungan Ketebalan Epidermis Daun Terhadap Serangan Jamur (*Mycosphaerella musicala*) Penyebab Penyakit Bercak Daun Sigatoka Pada Sepuluh Kultivar Pisang. Jurnal HPT. 3(1): 35-43.
- Baker, K. F. dan R. J. Cook. 1983. The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens. APS Press. St Paul, Minnesota: 539.
- Chandra, B. 2005. Pengantar Kesehatan Lingkungan. Penerbit Buku Kedokteran Emergency Arcan. Jakarta.
- Djide, N dan Sartini. 2006. Dasar-Dasar Mikrobiologi. Laboratorium Mikrobiologi Farmasi. Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Faske, T., T. L. Kirkpatrick., J. Zhou., dan I. Tzanetakis. 2014. Soybean Diseases. Division of Agriculture Research and Extension. University of Anhanas.
- Ferreira, SA dan RA Boley. 2006. *Sclerotium rolfsii*. [Http://www.extento.edu](http://www.extento.edu) (28 September 2014).
- Fichtner, E. J. 2010. *Sclerotium rolfsii* Sacc. <http://www/cals/ncsu.edu/rolfsii.html> (28 September 2014).
- Ganesan S, R. G. Kuppusamy., dan R. Sekar. 2007. Integrated management of stem rot disease (*Sclerotium rolfsii*) of groundnut (*Arachis hypogaea* L.) using rhizobium and *Trichoderma harzianum* (ITCC-4572). Turk. J. Agric. For. 31(2): 103–108.
- Haas, dan Devago, G. 2005. Biological Control of Soil Borne Pathogens by *Pseudomonas fluorescent*. Nature Reviews Microbiology. 3: 307-319.
- Habazar dan Yaherwandi. 2006. Pengendalian Hayati Hama dan Penyakit Tumbuhan. Andalas University press. Padang: 10.
- Haryadi, D. 2007. Pengaruh Pemanfaatan Bakteri Penghasil Fitase (*Pantoea agglomerans*) Dalam Ransum Terhadap Kualitas Karkas Ayam Broiler. Skripsi. Surakarta: Program Studi Peternakan Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret Surakarta.
- Hassanudin. 2003. Peningkatan Peranan Mikroorganisme dalam Sistem Pengendalian Penyakit Tumbuhan Secara Terpadu. Jurusan Hama Dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara. Medan: 20-25.

- Herlambang, A. 2002. Teknologi Pengolahan Limbah Cair Industri Tahu. Pusat Pengkajian dan Penerapan Teknologi Lingkungan (BPPT) dan Badan Pengendalian Dampak Lingkungan. Samarinda.
- Herliyana, E.N., R. Jamilah, D. Taniwiryono, dan A. Firmansyah. 2013. Uji In vitro Pengendalian Hayati oleh *Trichoderma* spp. terhadap *Ganoderma* yang Menyerang Sengon. *Silvikultur Trop.* 4(3): 190-195.
- Holt, J., G. N. R. Krieg, P H.A. Sneath, J.T. Staley, dan S.T. Williams. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* Ninth Edition. Williams and Wilkins Maryland. United States of America.
- Husin, A. 2008. Pengolahan Limbah Cair Industri Tahu dengan Biofiltrasi Anaerob Dalam Reaktor *Fixed-Bed*. Tesis. Program Studi Magister Teknik Kimia, Sekolah Pascasarjana Universitas Sumatra Utara. Medan.
- Jenie, B.S.L., dan Rahayu. 1993. Penanganan Gizi Limbah Industri Pangan. Penerbit Kanisius : Yogyakarta.
- Kasmidjo. 1991. Bahan Ajaran Penanganan Limbah Pertanian, Perkebunan, dan Industri Pangan. PAN Pangan dan Gizi : Yogyakarta.
- Kusumaningati, A. M., S. Nurhatika., dan A. Muhibuddin. 2013. Pengaruh Konsentrasi Inokulum Bakteri *Zymomonas mobilis* dan Lama Fermentasi Pada Produksi Etanol dari Sampah Sayur dan Buah Pasar Wonokromo Surabaya. *Jurnal Sains dan Seni Pomits.* 2(2).
- Kuswardani, I., dan Widjajaseputra. 1998. Produksi Protein Sel Tunggal *Phanerochaete chrysosporium* Pada Media Limbah Cair Tahu yang Diperkaya : Kajian Optimasi Waktu Panen. *Prosiding Seminar Nasional Teknologi Pangan dan Gizi.* 604-613.
- Lee, J.Y., S. S. Moon, dan B. K. Hwang. 2003. Isolation and antifungal and antinoomycete activities of aerugine produced by *Pseudomonas fluorescens* strain MM-B16. *Appl. Environ. Microbiol.* 69(4): 2023-2031.
- Masnilah, R., A. L. Abadi, T.H. Astono, dan L.Q. Aini. 2013. Characterization of Bacterial Blight Pathogen on Edamame Soybean in Jember. *Berkala Ilmiah Pertanian.* 1: 10-14.
- Muhibuddin, A., L. Addina., A. L. Abadi., dan A. Ahmad. 2011. Biodiversity of Soil Fungi on Integrated Pest Management Farming System. *Agrivita.* 33(22): 111-118.
- Muhibuddin, A., I. R. Ivanesthi., S. Nurhatika., dan T. E. H. Basuki. 2017. Ethanol Fermentation Potency of Wild Yeast Which Isolated From Soil Drive Nutrient (SDN) Plantation System. *Research Jurnal of Life Science.* 4(3): 218-226.
- Muhibuddin, A., S. Fadilah., A. W. Sektiono., U. K. N. Qomariyah., M. Faizah., A. Susanti dan S. Nurhatika. 2018. Yeast from Epiphyte of Avocadoes to Control *Colletotrichum gloeosporioides* Causing Anthracnose Disease. *Jurnal Sains dan Teknologi.* 10(2): 52-60.
- Mullen, J. 2001. Southern blight, Southern stem blight, White mold. Available at [http://www.apsnet.org/education/LessonsPlantPath/SouthernBlight/text/fig\\_Q\\_1.htm](http://www.apsnet.org/education/LessonsPlantPath/SouthernBlight/text/fig_Q_1.htm) (diakses pada tanggal 16 August 2007).
- Pal, K. K. dan B. Mc Spadden, Gardener. 2006. Biological Control of Plant Pathogens. *The Plant Health Instructor.* 5 : 2-5.



- Pasaribu, E. L. P., I. R. Sastrahidayat., A. Muhibuddin. 2016. Eksplorasi Jamur Filoplane Pada Tanaman Seledri (*Apium graveolens*) dan Uji Kemampuan Antagonsnya Terhadap Penyakit Antraknosa (*Colletotrichum* sp.). Jurnal HPT. 4(1): 1-7.
- Pelezar, A., dan J. Michael. 2005. Dasar – Dasar Mikrobiologi. UI Press. Jakarta.
- Pelczar, M.J., E.C.S. Chan, dan N.R. Krieg. 1976. Microbiology. Me Graw Hill Book Company, New York : 896 pp.
- Puspitasari, F., M. Shovitridan dan N. D. Kuswytasari. 2012. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Aerob Proteolitik dari Tangki Septik. Jurnal Sains Dan Seni ITS. 1(1): 2301-928.
- Raharini, A.O., Kawuri, Retno dan K. Khalimi. 2012. Penggunaan *Streptomyces* sp. Sebagai Biokontrol Penyakit Layu pada Tanaman Cabai Merah (*Capsicum annum* L) yang Disebabkan Oleh *Fusarium oxysporum* f.sp. capsici. Fakultas Pertanian. Universitas Udayana. 2 (2): 155.
- Sadler, G.S. 2005. Management of bacterial wilt disease. p. 121-132. In C. Allen, P. Prior, and A.C. Hayward. (Eds.). Bacterial Wilt Disease and the *Ralstonia solanacearum* Species Complex. The American Phytopathological Society, St Paul Minnesota, USA.
- Saragih, Y. P. 2001. Membuat Aneka Tahu. PT. Niaga Swadaya. Yogyakarta.
- Sari, D. Y. R., T. B. Saputro., dan A. Muhibuddin. 2016. Uji Potensi Fermentasi Etanol Yeast Tanah yang Diisolasi dari Metode Budidaya SDN di Daerah Batu, Jawa Timur. Jurnal Sains dan Seni ITS. 5(2).
- Sastrahidayat, I. R., S. Djauhari., N. Saleh., dan A. Muhibuddin. 2011. Control of "Damping Off" Disease Caused by *Sclerotium rolfsii* SACC.Using Actinomycetes and VAM Fungi on Soybean in the Dry Land Based on Microorganism Diversity of Rhizosphere Zone. Agrivita. 33(1): 40-46.
- Schaad, N., J. B. Jones, dan W. Chun. (ed) 2001. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. 3<sup>rd</sup> Edition. APS Press. St. Paul Minnessota.
- Semangun, H. 2004. Penyakit-Penyakit Tanaman Pangan di Indonesia. Gadjah Mada University Press.. Yogyakarta. 449.
- Sennoi, R., N. Singkham., S. Jugloy., S. Boonlue., W. Saksirirat., W. Kesmala., dan A. Patanothai. 2013. Biological Control Of Southen Stem Rot Caused by *Sclerotium rolfsii* Using Trichoderma harzianum and Arbuscular Mycorrhizal Fungi on Jerrusalem Artichuke ( *Helianthus tuberosus* L). Dept of Plant Science and Agricultural Resources. Faculty of Agricultural. Khon Koen University. Thailand.
- Sharma, A., V. D. Diwevidi., S. Signh., K. K. Pawar., M. Jerman., L. B. Signh., S. Singh., dan D. Srivastawa. 2013. Biological Control and its Important in Agriculture. Journal of Biotechnology and Bioengineering Research. 4(3): 175-180.
- Shofiana, R.H., L. Sulistyowati., A. Muhibuddin. 2015. Eksplorasi jamur endofit dan khamir pada tanaman cengkeh (*Syzygium aromaticum*) serta uji potensi antagonismenya terhadap jamur akar putih (*Rigidoporus microporus*). Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan. 3(1): 75-83.

- Stein, T. 2005. *Bacillus subtilis* antibiotics, syntheses and specific function. *Molecular Microbiology*. 56(4): 854-857.
- Sugiharto. 1987. *Dasar-dasar Pengelolaan Air Limbah*. Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Sukamto., D. Wahyuno. 2013. Identifikasi dan Karakterisasi *Sclerotium rolfsii* Sacc. Penyebab Penyakit Busuk Batang Nilam (*Pogostemon cablin* Benth). *Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat*. 24(1): 35-41.
- Sumartini. 2011. Penyakit Tular Tanah *Sclerotium rolfsii* Dan *Rhizoctonia solani* Pada Tanaman Kacang-kacangan Dan Umbi- Umbian Serta Cara Pengendaliannya. *Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan UmiUmbian . Jurnal Litbang Pertanian*. 31(1): 3-5.
- Tanzil, A. I., A. Muhibuddin. dan S. Djauhari. 2015. Eksplorasi Jamur Tanah Pada Rizosfir Tomat di Lahan Endemis dan Non Endemis *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Jurnal HPT*. 3(1): 11-20.
- Tuitemwong, K., D. Y. C. Fung. 1991. Microbiological Study of Tofu . *Jurnal Food Protection*. 54(3): 212-216.
- Warisno dan K. Dahana. 2009. *Inspirasi Usaha Membuat Aneka Nata*. PT. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Witari A. S. dan I. Nurika. 2016. Penentuan Isolat Bakteri Asidogenik yang Mampu Menghasilkan Total Asam Tertinggi dari Limbah Cair Tahu. *Jurnal Teknologi dan Manajemen Agroindustri*. 5(1): 9-20.
- Zhang, Y. 2004. Biocontrol Sclerotina Stem Rot of Canola by Bacterial Antagonist and Study of Biocontrol Mechanism Involved. Thesis. University of Manitoba.
- Zuhria, S. A., S. Djauhari., A. Muhibuddin. 2016. Exploration and Antagonistic Test of Endophytic Fungi from Soybean (*Glycine max* L. Merr) With Different Resistance to *Sclerotium rolfsii*. *J. Exp. Life Sci*. 6(2): 101-105.



## LAMPIRAN

Tabel lampiran 1. Analisis ragam Persentase daya hambat pertumbuhan *S. rolfsii* umur 12 JST

Sumber Keragaman Tengah	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-Hitung	F-Tabel 5 %
Perlakuan	5	10,66	2,13	4,48*	2,77
Galat	18	8,57	0,48		
Total	23	19,23			

Tabel lampiran 2. Analisis ragam persentase daya hambat pertumbuhan *S. rolfsii* umur 24 JST

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-Hitung	F-Tabel 5 %
Perlakuan	5	5,68	1,17	7,98*	2,77
Galat	18	2,56	0,14		
Total	23	8,24			

Tabel lampiran 3. Analisis ragam Persentase daya hambat pertumbuhan *S. rolfsii* umur 36 JST

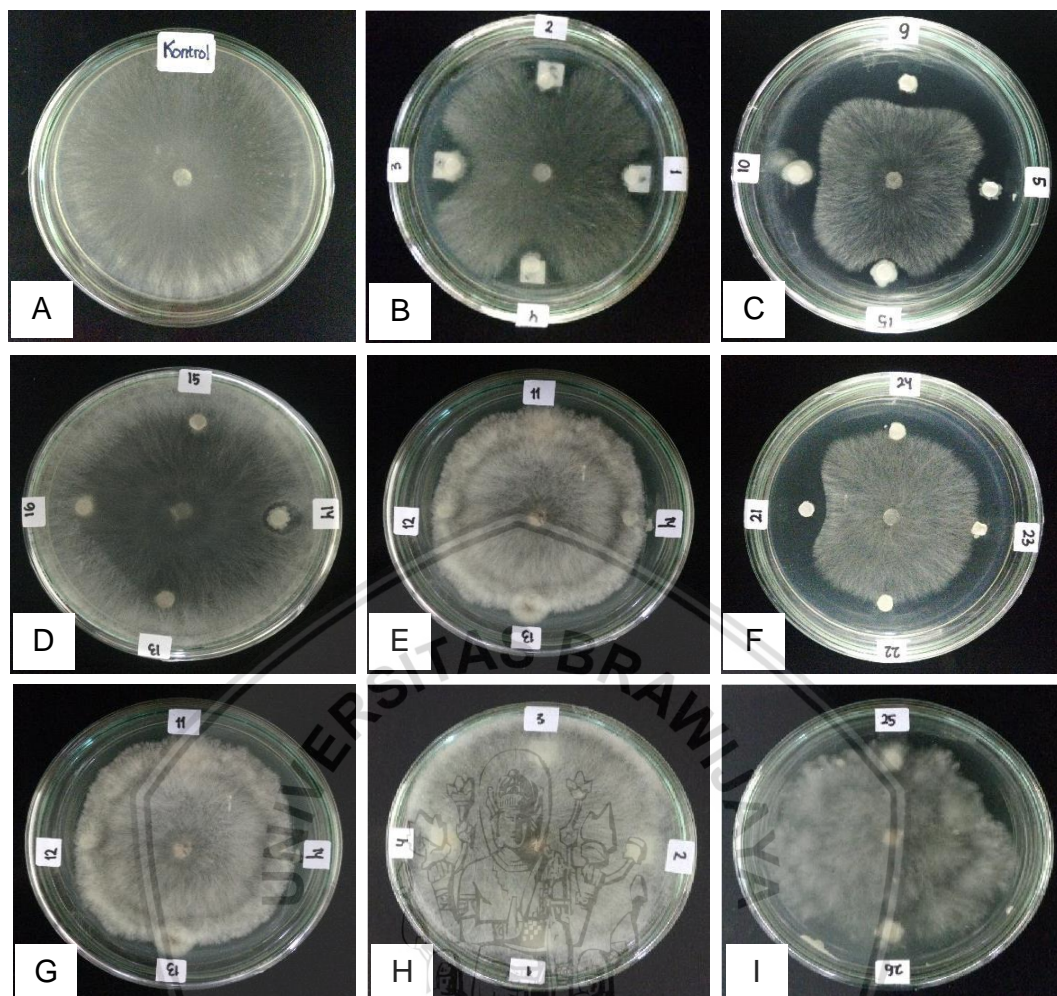
Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-Hitung	F-Tabel 5%
Perlakuan	5	17,53	3,51	16,02*	2,77
Galat	18	3,94	0,22		
Total	23	21,47			

Tabel lampiran 4. Analisis ragam persentase daya hambat pertumbuhan *S. rolfsii* umur 48 JST

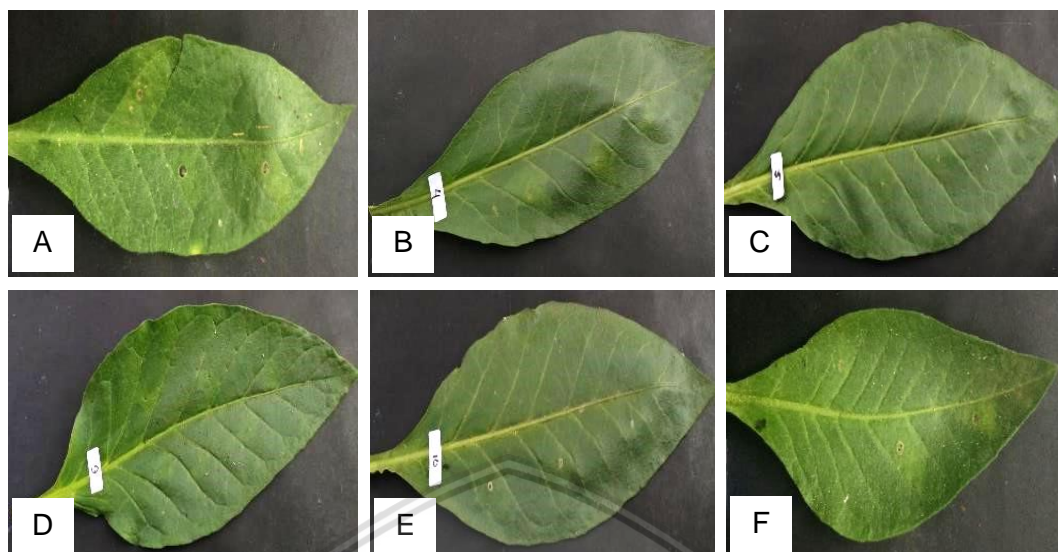
Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-Hitung	F-Tabel 5%
Perlakuan	5	20,22	4,04	19,23*	2,77
Galat	18	3,78	0,21		
Total	23	24,00			

Tabel lampiran 5. Analisis ragam Persentase daya hambat pertumbuhan *S. rolfsii* umur 60 JST

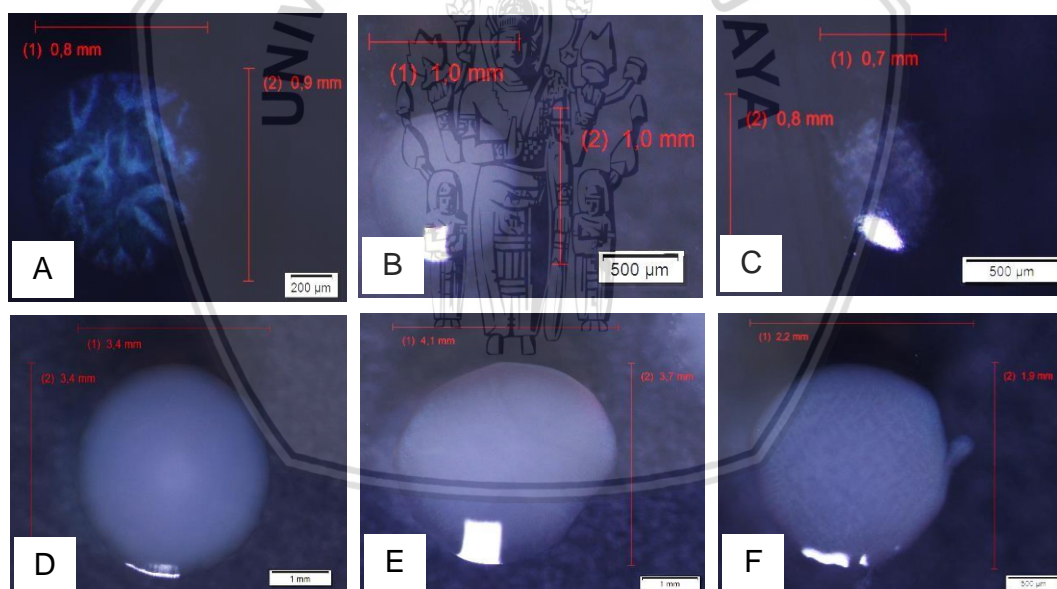
Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-Hitung	F-Tabel 5 %
Perlakuan	5	16,68	3,34	22,52*	2,77
Galat	18	2,67	0,15		
Total	23	19,35			



Gambar lampiran 1. Hasil seleksi bakteri antagonis A: isolat 1,2,3,4 dengan jamur *S. rolfsii*; B: isolat 5,9,10 dan 15 dengan jamur *S. rolfsii*; D: isolat 13,14,15, dan 16 dengan jamur *S. rolfsii*; E: isolat 11,12,13, dan 14 dengan jamur *S. rolfsii*; F: isolat 21,122,23, dan 24 dengan jamur *S. rolfsii*; G: isolat 11,12,13 dan 14 dengan jamur *S. rolfsii*; H: isolat 1,2,13, dan 4 dengan jamur *S. rolfsii*; I: isolat 25 dan 26 dengan jamur *S. rolfsii*

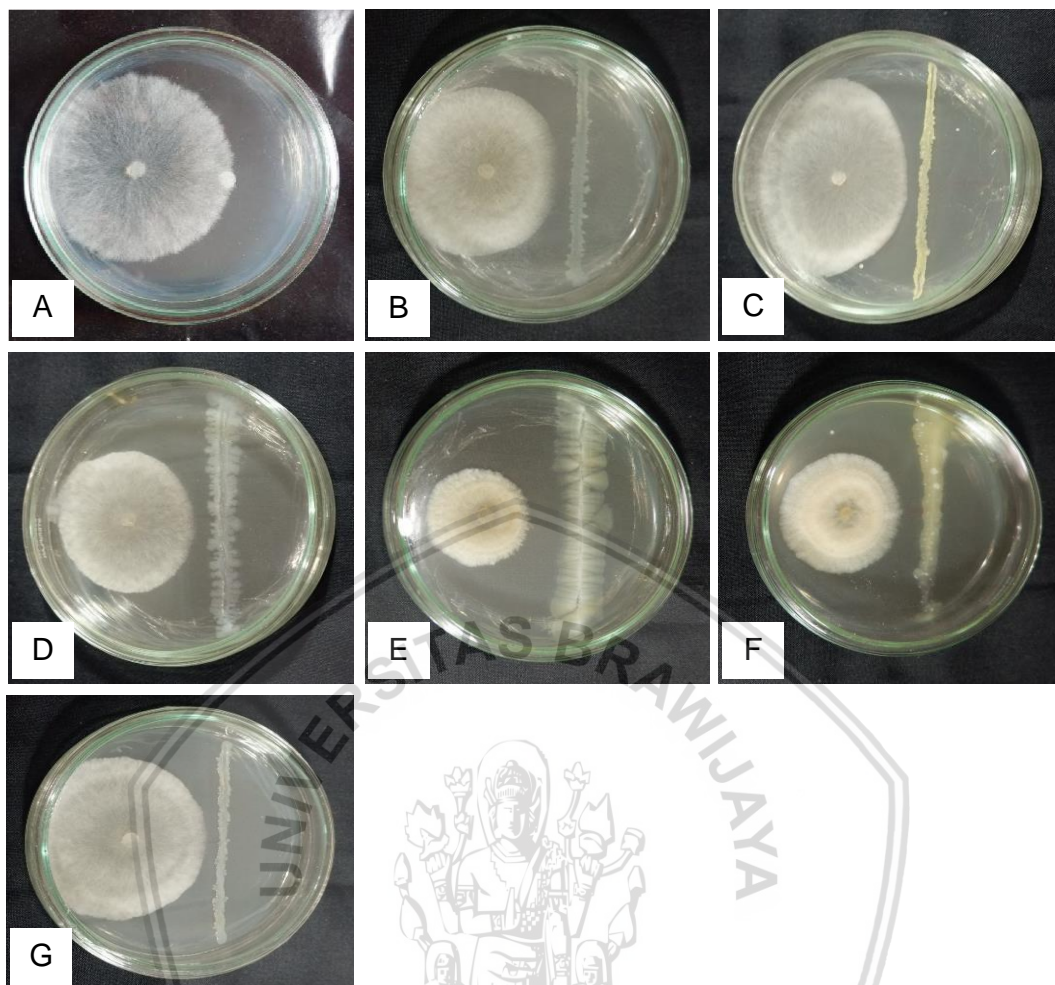


Gambar lampiran 2. Hasil uji hipersensitif A: isolat bakteri T3; B: isolat bakteri T4; C: isolat bakteri T5; D: isolat bakteri T9; E: isolat bakteri T10; dan F: isolat bakteri T21

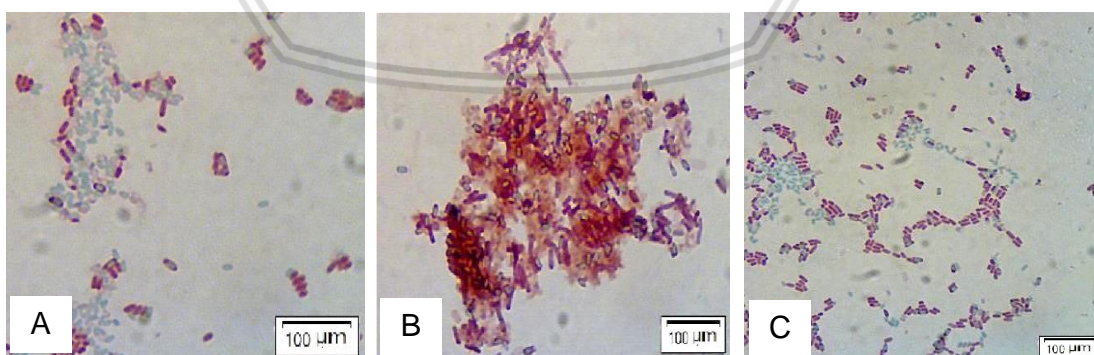


Gambar lampiran 3. Hasil pengamatan morfologi bakteri antagonis A: isolat bakteri T3, B: isolat bakteri T4, C: isolat bakteri T5, D: isolat bakteri T9, E: isolat bakteri T10, dan F: isolat bakteri T21

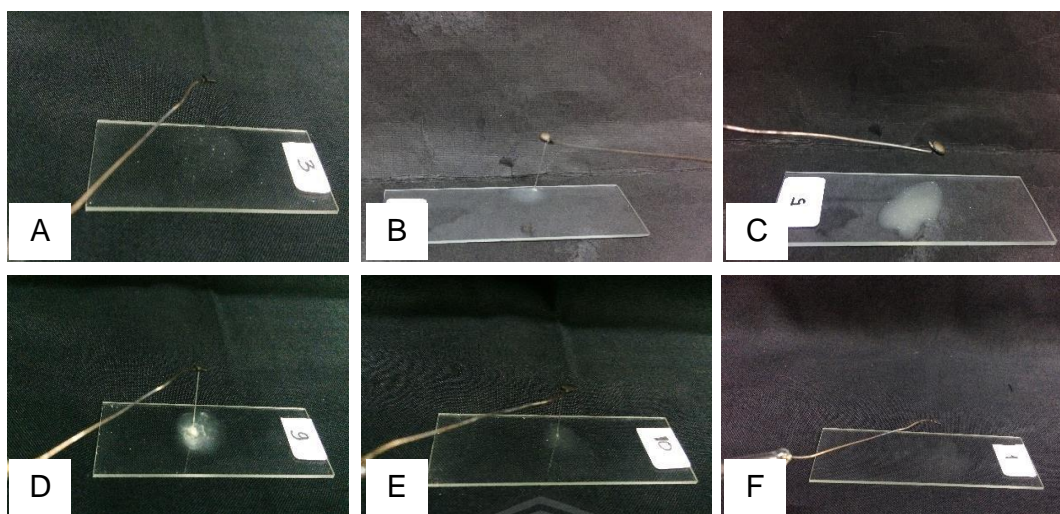




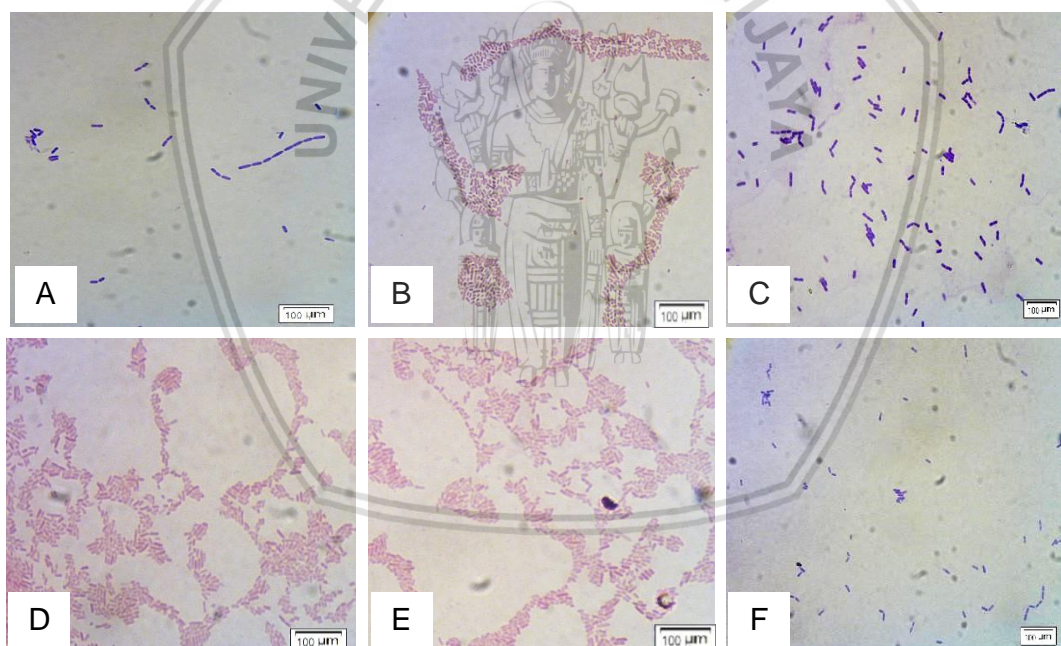
Gambar lampiran 4. Hasil uji *in vitro* A: kontrol, B: patogen dan isolat T3, C: patogen dan isolat T4, D: patogen dan isolat T5, E: patogen dan isolat T9, F: patogen dan isolat T10, G: patogen dan isolat T21



Gambar lampiran 5. Hasil uji pewarnaan spora A: isolat bakteri T3, B: isolat bakteri T5, C: isolat bakteri T21

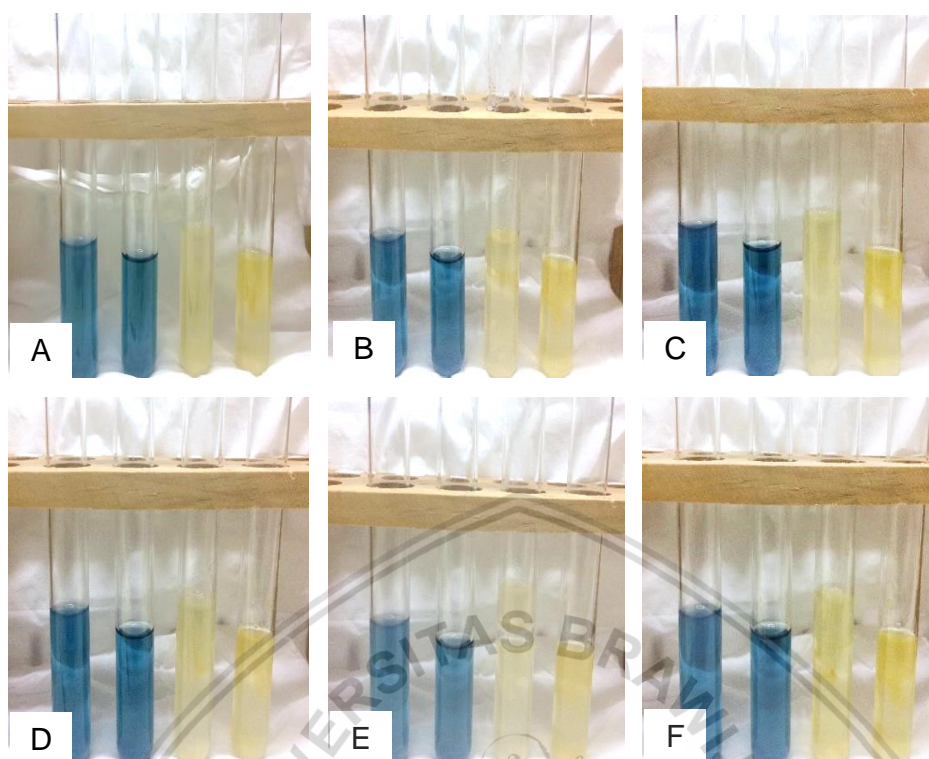


Gambar lampiran 6. Hasil uji KOH 3% A: isolat bakteri T3, B: isolat bakteri T4, C: isolat bakteri T5, D: isolat bakteri T9, E: isolat bakteri T10, dan F: isolat bakteri T21



Gambar lampiran 7. Hasil Uji Gram bakteri A: Isolat Bakteri T3, B: isolat bakteri T4, C: isolat bakteri T5, D: isolat bakteri T9, E: isolat bakteri T10, dan F: isolat bakteri T21

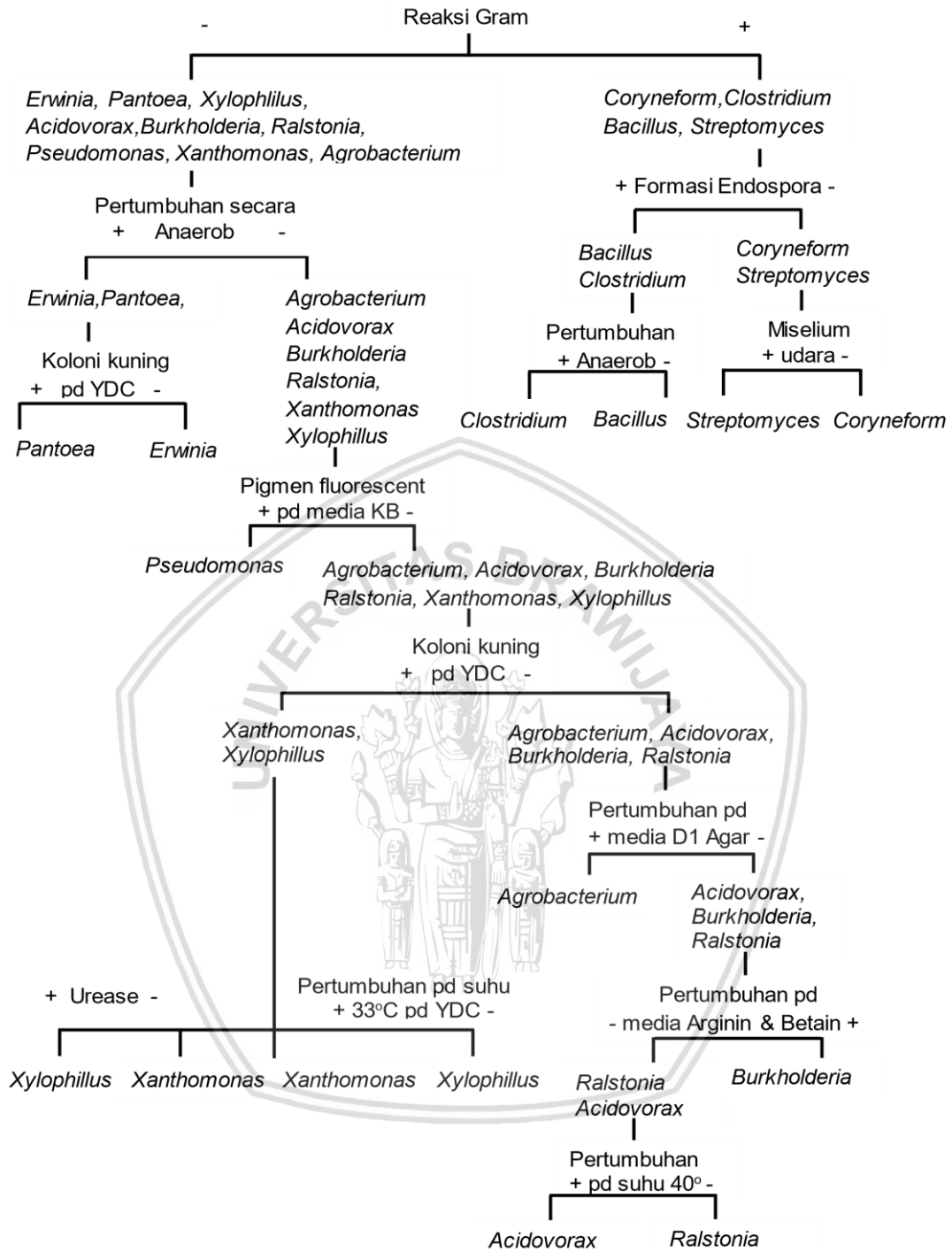




Gambar lampiran 8. Hasil uji oksidatif fermentatif A: isolat bakteri T3, B: isolat bakteri T4, C: isolat bakteri T5, D: isolat bakteri T9, E: isolat bakteri T10, F: isolat bakteri T21



Gambar lampiran 9. Hasil pertumbuhan koloni kuning pada Media YDC A: isolat bakteri T4, B: isolat bakteri T9, C: isolat bakteri T10



Gambar lampiran 10. Diagram pengujian bakteri hingga tingkat genus (Schaad., et al, 2001)



**EKSPLORASI BAKTERI DARI LIMBAH CAIR TAHU DAN  
POTENSI ANTAGONISNYA TERHADAP *Sclerotium rolfsii*  
PENYEBAB PENYAKIT REBAH SEMAI SECARA *IN VITRO***

**Oleh**

**JENNEFER FRANSISCA SIMBOLON**



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
FAKULTAS PERTANIAN  
MALANG  
2018**

**EKSPLORASI BAKTERI DARI LIMBAH CAIR TAHU DAN  
POTENSI ANTAGONISNYA TERHADAP *Sclerotium rolfsii*  
PENYEBAB PENYAKIT REBAH SEMAI SECARA *IN VITRO***

**OLEH  
JENNEFER FRANSISCA SIMBOLON**

**145040201111284**

**MINAT STUDI PERLINDUNGAN TANAMAN  
PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI**

**SKRIPSI**

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh  
Gelar Sarjana Pertanian Strata Satu (S-1)**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
FAKULTAS PERTANIAN  
JURUSAN HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN  
MALANG  
2018**

### PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa segala pernyataan dalam skripsi ini merupakan hasil penelitian saya sendiri, dengan bimbingan komisi pembimbing. Skripsi ini tidak pernah diajukan untuk memperoleh gelar di suatu perguruan tinggi manapun dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang dengan jelas ditunjukkan rujukannya dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Malang, Oktober 2018

Jennefer Fransisca Simbolon



## LEMBAR PERSETUJUAN

Judul Penelitian : Eksplorasi Bakteri dari Limbah Cair Tahu dan  
Potensi Antagonisnya terhadap *Sclerotium*  
*rolfsii* Penyebab Penyakit Rebah Semai  
Secara *In Vitro*

Nama Mahasiswa : Jennefer Fransisca Simbolon

NIM : 145040201111284


Jurusan : Hama dan Penyakit Tumbuhan

Program Studi : Agroekoteknologi

## Disetujui

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,




Dr. Anton Muhibuddin, SP., MP.  
NIP. 19771130 200501 1 002



Antok Wahyu S., SP., MP.  
NIP. 201304 841014 1 001

Diketahui,  
Ketua Jurusan  
Hama dan Penyakit Tumbuhan



Dr. Ir. Ludji Pantja Astuti, MS.  
NIP. 19551018 198601 2 001

Tanggal Persetujuan :

## LEMBAR PENGESAHAN

Mengesahkan

### MAJELIS PENGUJI

Penguji I



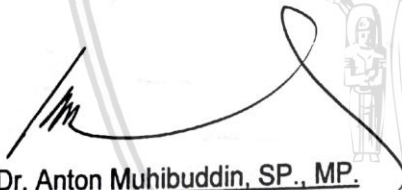
Dr. Ir. Toto Himawan, SU.  
NIP.19551119 198303 1 002

Penguji II



Antok Wahyu Sektiono, SP., MP.  
NIP. 201304 841014 1 001

Penguji III



Dr. Anton Muhibuddin, SP., MP.  
NIP. 19771130 200501 1 002

Penguji IV



Dr. Ir. Mintarto Martosudiro, MS.  
NIP. 19590705 198601 1 003

Tanggal Lulus :



*Skripsi ini saya persembahkan untuk  
Kedua orangtua tercinta serta kedua kakak dan adik-  
adikku tersayang yang selalu mendoakan dan mendukungku.*

## RINGKASAN

**Jennefer Fransisca S. 145040201111284. Eksplorasi Bakteri dari Limbah Cair Tahu dan Potensi Antagonisnya terhadap *Sclerotium rolfsii* Penyebab Penyakit Rebah Semai Secara *In Vitro*. Dibawah bimbingan Dr. Anton Muhibuddin, SP., MP. sebagai Pembimbing Utama dan Antok Wahyu S., SP., MP. sebagai Pembimbing Pendamping.**

---

Pengendalian penyakit tanaman selama ini masih dilakukan secara konvensional yakni penggunaan fungisida kimia. Namun dalam pengaplikasiannya, petani cenderung menggunakan dosis yang kurang tepat sehingga menyebabkan dampak negatif salah satunya yaitu pencemaran lingkungan. Salah satu upaya untuk menghindari pencemaran lingkungan akibat penggunaan pestisida sintetis adalah melalui pemanfaatan agen hayati. Pemanfaatan agen hayati yang relatif ramah terhadap lingkungan dapat dilakukan dengan menggunakan bakteri antagonis. Agens hayati seperti bakteri dapat ditemukan di berbagai tempat salah satunya adalah limbah cair tahu. Oleh karena itu dilakukan eksplorasi bakteri dari limbah cair tahu yang berpotensi sebagai agens antagonis *S. rolfsii* pada tanaman kedelai.

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya dan di Kelurahan Sumbersari, Kecamatan Lowokwaru Kota Malang dimulai pada bulan Maret hingga bulan Agustus 2018. Tahapan penelitian yaitu pengambilan sampel limbah cair tahu, isolasi dan purifikasi bakteri, seleksi bakteri antagonis, uji penghambatan pertumbuhan patogen *S. rolfsii* secara *in vitro*, dan identifikasi bakteri.

Hasil isolasi bakteri limbah cair tahu diperoleh 30 isolat bakteri dan terdapat 9 isolat bakteri yang bersifat antagonis terhadap patogen *S. rolfsii*. Dari 9 isolat bakteri dipilih 6 isolat yang memiliki penghambatan terbesar untuk dilakukan uji antagonis terhadap jamur patogen *S. rolfsii*. Keenam isolat bakteri tersebut adalah isolat T3, T5, T21 tergolong dalam genus *Bacillus* sp., isolat T4, T9 dan T10 tergolong dalam genus *Pantoea* sp. Isolat bakteri yang memiliki penghambatan tertinggi pada uji *in vitro* yaitu isolat T9 sebesar 63,33% yang termasuk dalam genus *Pantoea* sp.



## SUMMARY

**Jennefer Fransisca S. 145040201111284. Bacteria Exploration From Tofu Wastewater And Antagonic Potential On *Sclerotium rolfsii* Cause of Damping Off With In Vitro Method. Supervised by Dr. Anton Muhibuddin, SP., MP.. and Antok Wahyu S., SP., MP.**

---

Nowadays, plant diseases controlling has been carried out conventionally, which is the use of chemical fungicides. But in its application, farmers tend to use inappropriate doses, causing negative impacts such as environmental pollution. One thing to do to avoid the environmental pollution that caused by synthetic pesticides is through the utilization of biological agents. The utilization of biological agents by using antagonist bacteria are relatively environmental friendly. Biological agents such as a bacteria can be found in various places, one of which is tofu wastewater. It makes the bacterial exploration from tofu wastewater that has a potentially *S.rolfsii*, the antagonist agent that caused damping off.

The research was conducted at Plant Disease Laboratory of Agriculture Faculty Brawijaya University and Sumber Sari Village, Lowokwaru Malang started at March until August 2018. The research phase is the sampling of tofu wastewater, bacteria isolation and purification, antagonist bacteria selection, pathogen *S. rolfsii* growth inhibition in vitro test, and bacteria identification.

The results of tofu wastewater isolation is obtained 30 bacterial isolates. There were 9 isolates bacteria that antagonist with pathogen *S. rolfsii*. From the 9 isolates of bacteria, 6 isolates bacteria was selected, that have the greatest inhibition, then tested in vitro test. The six bacterial isolates is T3, T5, and T21 isolate, included to the genus *Bacillus*, T4, T9 and T10 isolate were included to the genus *Pantoea*. Bacterial isolates that had the highest inhibition in vitro test was isolate T9 amount 63,33 % which included to the genus *Pantoea*.

## RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Tebing Tinggi, pada tanggal 26 Januari 1997 dari pasangan Bapak Effendi Simbolon dan Ibu Julita Murniati Simanjuntak. Penulis merupakan anak ketiga dari lima bersaudara. Penulis menempuh pendidikan dasar di SDN 102088 Kecamatan Tebing Tinggi pada tahun 2002 dan lulus pada tahun 2008, pendidikan sekolah menengah pertama diselesaikan di SMPN 1 Tebing Tinggi pada tahun 2009 dan sekolah menengah atas di SMAN 4 Tebing Tinggi pada tahun 2011. Pada tahun 2011 penulis terdaftar sebagai mahasiswa Strata 1 Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya Malang, Jawa Timur melalui jalur seleksi Undangan.

Selama menjadi mahasiswa penulis aktif dalam organisasi fakultas yaitu Unit Kegiatan Mahasiswa Kristen (UKMK) Christian Community sebagai Pengurus Bidang II (Acara) pada tahun 2016. Penulis pernah aktif sebagai panitia tingkat fakultas meliputi Perayaan Natal *Christian Community* 2014 sebagai divisi Humas, Perayaan Paskah 2015 sebagai divisi Musik, Penyambutan Mahasiswa Baru Retreat *Christian Community* 2015 sebagai divisi Musik, Perayaan Natal *Christian Community* 2016 sebagai divisi Konsumsi, Penyambutan Mahasiswa Baru Retreat *Christian Community* 2017 sebagai divisi Acara, Perayaan Natal *Christian Community* 2017 sebagai *Sharing Committee* (SC). Selain itu penulis juga pernah melaksanakan magang kerja di Wisata Petik Jambu Kristal Bumiaji pada tahun 2017.

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas berkat dan kasihNya penulis dapat menyelesaikan laporan penelitian dengan judul “Eksplorasi Bakteri dari Limbah Cair Tahu dan Potensi Antagonisnya terhadap *Sclerotium rolfsii* Penyebab Penyakit Rebah Semai Secara *In Vitro*”. Disusun untuk memenuhi kewajiban Program Studi Agroekoteknologi Universitas Brawijaya dalam menyelesaikan program sarjana (S1). Penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Dr. Anton Muhibuddin, SP., MP. selaku dosen pembimbing utama dan Antok Wahyu Sektiono, SP., MP. selaku dosen pembimbing pendamping atas segala nasihat, arahan dan bimbingannya kepada penulis dalam penyusunan laporan penelitian ini
2. Dr. Ir. Ludji Pantja Astuti, MS. selaku ketua Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang.
3. Kedua orang tua, Papa Effendi Simbolon dan Mama Julita M. Simanjuntak serta kedua kakak dan adik penulis yaitu Nella C. Simbolon, SE., Tina M. Simbolon, SP., Ruth O. Simbolon., dan Jeremi Simbolon yang selalu memberikan bimbingan, bantuan, kasih sayang, doa dan motivasi kepada penulis.
4. Terimakasih kepada sahabat penulis Kristi F. Ginting, Elsa M. Malau, Swella P. Sitanggang, Cindy L. Candra, , Iva R. Sihalohe, Yaman U. Nasution, Ken N. Sirait, Erta C. Situmorang, Baren L. Silalahi, Nella S. Silaban, Hizkia Y. Alfredo dan teman-teman dari Persekutuan Mahasiswa Kristen *Christian Community*, NHKBP Malang, dan laboratorium Penyakit Tumbuhan 1 yang telah memberikan doa, bantuan dan motivasi yang diberikan kepada penulis.

Semoga skripsi ini dapat bermanfaat dan berguna bagi pembaca terutama mahasiwa Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Universitas Brawijaya Malang. Penulis berharap pemikiran berupa saran yang membangun sebagai koreksi untuk penulisan ini yang lebih baik.

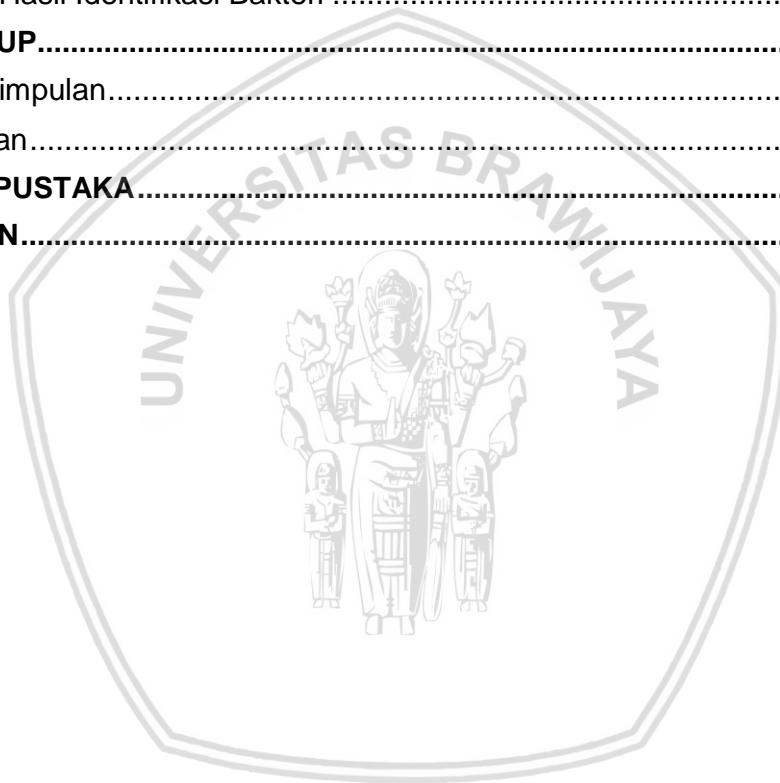
Malang, Oktober 2018

Penulis

## DAFTAR ISI

<b>RINGKASAN .....</b>	<b>i</b>
<b>SUMMARY .....</b>	<b>ii</b>
<b>RIWAYAT HIDUP .....</b>	<b>iii</b>
<b>KATA PENGANTAR .....</b>	<b>iv</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>v</b>
<b>DAFTAR GAMBAR .....</b>	<b>vii</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>viii</b>
<b>1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Tujuan Penelitian .....	2
1.3 Hipotesis Penelitian .....	2
1.4 Manfaat Penelitian .....	2
<b>2. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>3</b>
2.1 <i>Sclerotium rolfsii</i> .....	3
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi <i>S. rolfsii</i> .....	3
2.1.2 Gejala Serangan Penyakit Rebah Semai Pada Kedelai .....	4
2.1.3 Faktor yang Mempengaruhi Perkembangan Penyakit <i>S. rolfsii</i> .....	5
2.1.4 Pengendalian Penyakit Rebah Semai pada Kedelai .....	5
2.2 Agens Hayati .....	6
2.3 Bakteri Antagonis .....	6
2.4 Limbah Cair Tahu .....	7
<b>3. METODOLOGI PENELITIAN .....</b>	<b>8</b>
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian .....	8
3.2 Alat dan Bahan .....	8
3.3 Pelaksanaan Penelitian .....	8
3.3.1 Isolasi dan Purifikasi Jamur Patogen <i>S. rolfsii</i> .....	8
3.3.2 Pengambilan Sampel Limbah Cair Tahu .....	9
3.3.3 Isolasi dan Purifikasi Bakteri dari Limbah Cair Tahu .....	9
3.3.4 Seleksi Bakteri yang bersifat Antagonis terhadap Patogen <i>S. rolfsii</i> .....	9
3.3.5 Uji Penghambatan Pertumbuhan Patogen <i>S. rolfsii</i> secara <i>in vitro</i> .....	10
3.3.6 Identifikasi dan Karakterisasi Bakteri Antagonis Limbah Cair Tahu ....	11
3.4 Analisis Data .....	13

<b>4. HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	<b>14</b>
4.1 Isolasi Jamur <i>Sclerotium rolfsii</i>	14
4.2 Isolasi Bakteri dari Limbah Cair Tahu	15
4.3. Seleksi Bakteri yang Bersifat Antagonis terhadap Patogen <i>S. rolfsii</i>	16
4.4 Uji Penghambatan Pertumbuhan Patogen <i>S. rolfsii</i> secara <i>in vitro</i>	17
4.5 Karakteristik dan Identifikasi Bakteri Limbah Cair Tahu	19
4.5.1 Karakteristik Morfologi Koloni	19
4.5.2 Karakteristik Fisiologi dan Biokimia	21
4.5.3 Hasil Identifikasi Bakteri	25
<b>5. PENUTUP</b>	<b>29</b>
5.1 Kesimpulan	29
5.2 Saran	29
<b>DAFTAR PUSTAKA</b>	<b>30</b>
<b>LAMPIRAN</b>	<b>34</b>





## DAFTAR GAMBAR

Nomor	Teks	Halaman
1	Hubungan apit ( <i>clamp connection</i> ) pada percabangan hifa utama .....	4
2	Pertumbuhan hifa dan produksi <i>Sclerotium rolfsii</i> di media kentang .....	4
3	Pola penempatan seleksi bakteri antagonis dan patogen pada cawan....	
	.....	10
4	Uji penghambatan pertumbuhan patogen <i>S. rolfsii</i> secara <i>in vitro</i> .....	11
5	Makroskopis <i>S. rolfsii</i> .....	14
6	Mikroskopis <i>S. rolfsii</i> .....	14
7	Hasil isolasi bakteri.....	15
8	Seleksi Bakteri Antagonis.....	17
9	Daya Hambat Bakteri Antagonis.....	19
10	Mikroskopis koloni bakteri T4 .....	20
11	Hasil uji hipersensitif pada daun tembakau.....	21
12	Hasil uji KOH.....	22
13	Hasil sel bakteri perbesaran 100 kali .....	23
14	Hasil pewarnaan spora.....	23
15	Hasil Uji OF isolat T3.....	24
16	Hasil uji media YDC.....	25
17	Hasil Uji Katalase pada preparat. ....	25
	Lampiran	
1.	Hasil seleksi bakteri antagonis .....	35
2.	Hasil uji hipersensitif.....	36
3.	Hasil pengamatan morfologi bakteri antagonis .....	36
4.	Hasil uji <i>in vitro</i> .....	37
5.	Hasil uji pewarnaan spora .....	37
6.	Hasil uji KOH 3%.....	38
7.	Hasil Uji Gram bakteri .....	38
8.	Hasil uji oksidatif fermentatif .....	39
9.	Hasil pertumbuhan koloni kuning pada Media YDC .....	39
10.	Diagram pengujian bakteri hingga tingkat genus .....	40

## DAFTAR TABEL

Nomor	Teks	Halaman
1	Perlakuan uji penghambatan jamur patogen <i>S. rolfsii</i> secara in vitro. ....	10
2	Persentase penghambatan bakteri terhadap patogen <i>S. rolfsii</i> .....	16
3	Rerata diameter miselia patogen <i>S. rolfsii</i> terhadap bakteri antagonis..	18
4	Karakteristik morfologi koloni bakteri antagonis .....	19
5	Karakteristik fisiologi dan biokimia bakteri antagonis .....	21
6	Hasil identifikasi bakteri antagonis .....	26

## Lampiran

1	Analisis ragam persentase daya hambat pertumbuhan jamur <i>S. rolfsii</i> umur 12 JST .....	34
2	Analisis ragam persentase daya hambat pertumbuhan jamur <i>S. rolfsii</i> umur 24 JST .....	34
3	Analisis ragam persentase daya hambat pertumbuhan jamur <i>S. rolfsii</i> umur 36 JST .....	34
4	Analisis ragam persentase daya hambat pertumbuhan jamur <i>S. rolfsii</i> umur 48 JST .....	34
5	Analisis ragam persentase daya hambat pertumbuhan jamur <i>S. rolfsii</i> umur 60 JST .....	34

## 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Pengendalian penyakit tanaman selama ini masih dilakukan secara konvensional yakni penggunaan fungisida kimia. Namun dalam pengaplikasiannya, petani cenderung menggunakan dosis yang kurang tepat sehingga menyebabkan dampak negatif salah satunya yaitu pencemaran lingkungan. Salah satu upaya untuk menghindari pencemaran lingkungan akibat penggunaan pestisida sintetis adalah melalui pemanfaatan agen hayati. Pemanfaatan agen hayati yang relatif ramah terhadap lingkungan dapat dilakukan dengan menggunakan bakteri antagonis (Agrios, 2005). Berdasarkan (Baker dan Cook, 1983) aplikasi mikroorganisme antagonis lebih aman bagi lingkungan, relatif kompatibel dalam pengendaliannya dan tidak menimbulkan residu kimia bagi lingkungan di dalam agroekosistem. Mikroorganisme yang bersifat antagonis mempunyai pengaruh berlawanan terhadap mikroorganisme patogenik sehingga dapat dimanfaatkan sebagai suatu komponen dalam upaya pengendalian (Hasanuddin, 2003). Bakteri – bakteri antagonis mampu menghambat pertumbuhan jamur patogen dengan menghasilkan senyawa yang diketahui sebagai antifungal. Jenis – jenis bakteri antagonis yang pernah diteliti untuk pengendalian patogen tanaman telah dirangkum oleh Sadler (2005), yang meliputi *Bacillus* spp., *B. cereus*, *B. polymyxa*, *B. subtilis*, *Burkholderia glume*, *Corynebacterium* sp., *Escherichia* sp., *Pseudomonas aeruginosa*, *P. fluorescens*, *Streptomyces mutabilis*, dan Actinomycetes.

Jenis agens hayati yang dikembangkan adalah mikroba alami, yang hidup sebagai saprofit di dalam tanah, air dan bahan organik, maupun di dalam jaringan tanaman (endofit) yang bersifat menghambat pertumbuhan dan berkompetisi dalam ruang dan nutrisi dengan patogen sasaran, atau bersifat menginduksi ketahanan tanaman (Litbang, 2006). Agens hayati seperti bakteri dapat ditemukan di berbagai tempat salah satunya adalah limbah cair tahu. Pada Limbah cair tahu mengandung protein, lemak, vitamin, dan mineral (Ca, Mg, Fe) sehingga berpotensi sebagai medium pertumbuhan mikroorganisme (Kasmidjo, 1991 Jenie dan Rahayu, 1993; Kuswardani dan Widjajaseputra, 1998). Berdasarkan penelitian Tuitemwong dan Daniel (1991) pada limbah tahu ditemukan bakteri *Streptococcus* sp., *Enterobacter* sp., dan *Pseudomonas* sp. Dyah (2005), melaporkan bahwa *Pseudomonas fluorescens* mampu menekan penyakit layu yang disebabkan oleh jamur *Fusarium* pada tanaman tomat.

Mikroorganisme antagonis yang diteliti secara intensif dan berpotensi besar untuk pengendalian penyakit tular tanah adalah bakteri *P. fluorescens* dan bakteri *B. subtilis*. Bakteri ini menghasilkan senyawa-senyawa yang bersifat antibiosis seperti enzim kitinase yang dapat menghidrolisis sel jamur dan senyawa antibiotik yang dapat menghambat perkembangan patogen (Habazar dan Yaharwandi, 2006). Hasil penelitian sebelumnya menyatakan bahwa *Pseudomonas* sp. dan *Bacillus* sp. mampu menghambat pertumbuhan patogen *Sclerotium rolfii*. Patogen *S. rolfii*, merupakan patogen tular tanah yang menyebabkan penyakit rebah semai pada tanaman kedelai (Abidin, 2015)

Berdasarkan uraian tersebut menarik untuk dilakukannya penelitian eksplorasi dan potensi mikroorganisme bermanfaat lebih lanjut yang terdapat pada limbah tahu sebagai agens hayati pengendali penyakit *S. rolfii* yang efektif dan ramah lingkungan.

### **1.2 Tujuan Penelitian**

1. Memperoleh jenis bakteri antagonis pada limbah cair tahu.
2. Mengetahui daya antagonis terhadap patogen *S. rolfii* pada tanaman kedelai.

### **1.3 Hipotesis Penelitian**

1. Limbah cair tahu terdapat bakteri yang berpotensi sebagai agens antagonis.patogen *S. rolfii*.
2. Bakteri antagonis dari limbah cair tahu mampu menghambat patogen *S. rolfii*

### **1.4 Manfaat Penelitian**

1. Dapat memberikan informasi mengenai kemampuan bakteri pada limbah cair tahu dalam menekan pertumbuhan patogen *S. rolfii*.
2. Menjadi salah satu teknik pengendalian hayati yang efektif dan ramah lingkungan.

## 2. TINJAUAN PUSTAKA

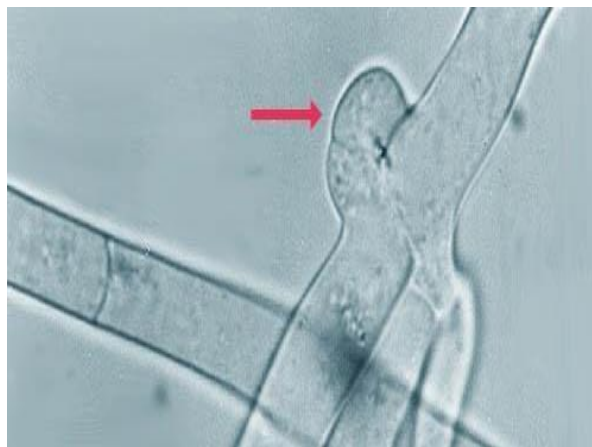
### 2.1 *Sclerotium rolfsii*

#### 2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi *S. rolfsii*

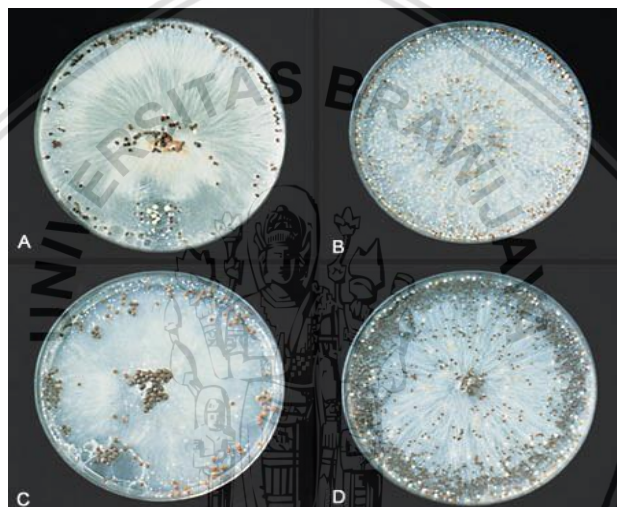
*S. rolfsii* merupakan patogen yang masuk kedalam ordo Agonomycetes (Myceliales), kelas Agonomycetes (miselia steril), subdivisi Deuteromycotina (Agrios, 2008). Jamur *S. rolfsii* mempunyai miselium yang terdiri dari benang-benang berwarna putih, tersusun seperti bulu atau kapas. Jamur ini tidak membentuk spora. Cara jamur untuk mempertahankan diri salah satunya adalah membentuk sklerotium yang semula berwarna putih, kelak menjadi coklat dengan garis tengah lebih kurang 1 mm (Semangun, 2004). Sklerotium bentuknya hampir bulat dengan pangkal yang agak datar, mempunyai kulit luar (*rind*), kulit dalam (*cortec*) dan teras (*medulla*). Kulit luar mempunyai sel-sel dengan dinding yang penebalannya merata dan mengandung banyak pigmen. Sel-sel kulit dalam dindingnya sedikit berpigmen dan sel-sel teras dindingnya tidak berwarna dengan penebalan yang tidak rata. Sel-sel kulit dalam dan teras mengandung gelembung-gelembung bahan cadangan, sedang kulit luar tidak (Semangun, 1994).

*S. rolfsii* memiliki koloni berwarna putih dengan banyak untaian hifa, sel hifa primer yang berkembang di tepi koloni mempunyai lebar 4-9  $\mu\text{m}$  dan panjang hingga 350  $\mu\text{m}$ , dengan satu atau lebih hubungan apit (*clamp conection*) pada sekatnya (Gambar 1). Hifa sekunder timbul tepat di bawah pangkal dan sering tumbuh menempel pada hifa primer. Cabang tersier dan seterusnya lebih sempit dengan lebar 1,5-2  $\mu\text{m}$ , sel-sel pendek, percabangannya membentuk sudut yang besar. Letaknya kurang terikat dengan sekat dan biasanya tidak mempunyai apit (Semangun, 2004). Pada pengamatan dengan mata telanjang, massa miselium tampak berwarna putih dan terlihat tebal, sel hifanya membesar dan menjadi banyak untuk menginfeksi jaringan tanaman (Mullen, 2001). Tingkat pertumbuhan hifa *S. rolfsii* telah diamati mencapai 0,8-0,9 mm per jam pada suhu 27°C di media *Potato Dektrose Agar* (PDA), sklerotia terbentuk setelah 5-7 hari (Gambar 2) (Mullen, 2001).





Gambar 1. Hubungan apit (*clasp connection*) pada percabangan hifa utama *S. rolfsii* yang menginfeksi kentang (Icochea dan L.J. Turkensteen 2001 dalam Mullen, 2001).



Gambar 2. Pertumbuhan hifa dan produksi *S. rolfsii* di media kentang dektrose agar setelah tujuh hari (J.M.F. Yuen, 2001 dalam Mullen, 2001)

#### 2.1.2 Gejala Serangan Penyakit Rebah Semai Pada Kedelai

Patogen tular tanah sering menyerang tanaman kedelai, kacang hijau, dan kacang tanah. Serangan patogen tular tanah pada tanaman diawali dengan infeksi pada bagian akar atau batang yang berbatasan dengan permukaan tanah. Infeksi menyebabkan transportasi hara dan air tersumbat sehingga daun menguning dan tanaman layu. Patogen selanjutnya menyebar ke seluruh bagian tanaman dan menyebabkan pembusukan (Sumartini, 2011). Tanda pertama infeksi, meskipun biasanya tidak terdeteksi, adalah coklat gelap pada batang atau dibawah tanah. Gejala awal yang mungkin adalah proses penguningan dan kelayuan pada daun. Gejala berikutnya terlihat jamur lapisan putih atau benang miselium pada jaringan yang terinfeksi dalam tanah. Miselium yang tumbuh kemudian akan mengalami bentuk pertahanan berupa sklerotia. Ukuran sklerotia

mempunyai banyak bentuk yaitu bulat dan putih ketika muda kemudian menjadi coklat gelap sampai hitam (Ferreira dan Boley, 2006). Sklerotia tersebut dapat bertahan hidup 3 sampai 4 tahun di dekat permukaan tanah (Faske, 2014).

#### 2.1.3 Faktor yang Mempengaruhi Perkembangan Penyakit *Sclerotium rolfsii*

Pertumbuhan *S. rolfsii* dalam melakukan penetrasi pada inang dan infeksi memerlukan suhu 27-30°C/81-86°F, dan kelembaban yang tinggi. Pertumbuhan hifa dan perkecambahan sklerotia memerlukan suatu lahan yang telah mengalami penjemuran. Kelembaban tinggi juga disukai oleh jamur untuk berkembang. Pada suhu 27°C/81°F di media PDA, hifa *S. rolfsii* tumbuh rata-rata 0,8-0,9 mm per jam.

Sklerotia terbentuk setelah 5-7 hari (Mullen, 2001)

*S. rolfsii* menyerang saat kondisi lingkungan hangat dan dapat juga menyerang pada daerah tropis basah serta subtropis. Patogen dapat bertahan dengan miselium pada bahan organik yang telah mati, serta dapat juga hidup pada tanaman yang rentan dan juga sklerotia dapat bertahan dalam tanah. Suhu dan kelembaban merupakan faktor yang paling penting dalam penyebaran dan perkembangan patogen. Hifa akan tumbuh pada suhu 8-40°C/46-104°F, tetapi dapat tumbuh dengan optimal pada suhu antara 27-35°C/81-95°F (Mullen, 2001).

#### 2.1.4 Pengendalian Penyakit Rebah Semai pada Kedelai

Pengendalian penyakit yang sering dilakukan adalah dengan mencabut tanaman sakit, cara ini dapat diteruskan jika tanaman yang terserang dalam suatu area pertanaman hanya sedikit. Jika jumlah tanaman yang banyak terserang maka cara ini tidak efektif dan tidak efisien. Pencabutan tanaman sakit kemudian meletakkannya di pematang perlu dihindari karena dapat menjadi sumber inokulum pada musim tanam berikutnya. Tanaman sakit yang telah dicabut harus ditanamkan ke dalam tanah atau di bakar. Di Hawaii, pengendalian *S. rolfsii* dilakukan dengan memadukan kultur teknis, rotasi tanaman, pengolahan tanah lebih dari 20 cm, pemberian kompos, solarisasi tanah, mulsa plastik hitam, pengendalian hayati dengan memanfaatkan antagonisnya dan penggunaan pestisida (Ferreira dan Boyle, 2006)

## 2.2 Agens Hayati

Agens hayati adalah organisme yang terdiri dari spesies, subspecies, varietas, semua jenis serangga, nematode, protozoa, cendawan (fungi), bakteri, virus, mikoplasma, serta organisme lainnya dalam tahap perkembangannya yang dapat digunakan untuk pengendalian hama dan penyakit atau organisme pengganggu, proses produksi, pengolahan hasil pertanian, dan lain sebagainya (Supriadi, 2006). Pengendalian hayati merupakan pengendalian dengan cara pengurangan jumlah inokulum dalam keadaan aktif maupun dorman atau aktivitas patogen sebagai parasit oleh satu atau lebih organisme yang berlangsung secara alami atau dengan manipulasi lingkungan, inang atau agens antagonis (Cook dan Baker, 1983).

## 2.3 Bakteri Antagonis

Salah satu alternatif pengendalian yang ramah lingkungan dan aman bagi kesehatan manusia yaitu dengan pengendalian secara biologis (Pal *et al.*, 2006). Salah satu pengendalian secara biologis yaitu dengan menggunakan mikroba antagonis. Mikroba antagonis selama ini yang banyak digunakan adalah *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas fluorescens*. Bakteri-bakteri antagonis tersebut diketahui mampu menghambat jamur patogen dengan menghasilkan senyawa yang diketahui sebagai antifungal. Bakteri *Bacillus* sp. mampu menghasilkan senyawa *fengycin* dan *bacillomycin* yang diketahui sebagai antifungal, dan banyak senyawa peptid antibiotik lainnya yang diproduksi oleh *Bacillus* sp (Stein, 2005). Sedangkan bakteri *Pseudomonas* sp. mampu menghasilkan senyawa antibiotik (antifungal), siderofor, dan metabolit sekunder lainnya yang sifatnya dapat menghambat aktivitas jamur (Haas dan Devago, 2005). Kusumaningati *et al.*, (2013) menjelaskan bahwa bakteri memiliki kurva pertumbuhan yang signifikan dan memiliki fase yang berbeda, seperti :

1. Fase lag (fase lambat) terjadi pada jam ke-0 sampai jam ke-3, bakteri melakukan metabolisme dan penyesuaian diri pada lingkungan yang baru.
2. Fase eksponensial terjadi pada jam ke-3 sampai jam ke-19, fase ini merupakan fase perbanyakan sel, aktivitas sel yang meningkat dan fase yang paling penting dalam pertumbuhan bakteri.
3. Fase stasioner terjadi pada jam ke-19 sampai jam ke-24, kecepatan pertumbuhan menurun dan pertumbuhan bakteri yang terhenti.
4. Fase kematian yang mengakibatkan laju pertumbuhan menurun dan akhirnya dapat terhenti sama sekali.

Mekanisme bakteri antagonis dalam mengendalikan patogen tanaman menurut Sharma *et al* (2013) adalah sebagai berikut :

a. Kompetisi.

Mikroorganisme bertahan hidup di habitat alami mereka dengan cara bersaing ruang, mineral dan nutrisi untuk berkembang biak. Mekanisme kompetisi telah memainkan peran penting dalam biokontrol spesies *Fusarium* dan *Pythium* oleh beberapa strain *Pseudomonas*.

b. Antibiosis.

Antibiosis merupakan proses antagonis mengeluarkan senyawa metabolit, agen litik, enzim, senyawa racun, dan antibiotik dalam mengendalikan patogen.

c. Parasitisme.

Parasitisme terjadi ketika antagonis menyerang patogen dengan mengeluarkan enzim seperti kitinase, selulosa, dan enzim litik lainnya.

## 2.4 Limbah Cair Tahu

Limbah cair industri pangan terutama dari industri tahu mengandung bahan organik yang tinggi, apabila dibuang ke lingkungan tanpa diolah terlebih dahulu akan menimbulkan dampak negatif berupa penurunan kualitas lingkungan. Limbah cair tahu dan ampas tahu juga mengandung protein, lemak, vitamin, dan mineral (Ca, Mg, Fe) sehingga berpotensi sebagai medium pertumbuhan mikroorganisme (Kasmiidjo, 1991; Jenie dan Rahayu, 1993; Kuswardani dan Widjajaseputra, 1998). Karakteristik limbah industri tahu meliputi karakteristik fisika, kimia, dan biologis. Karakteristik fisika meliputi suhu, kekeruhan, warna, total padatan tersuspensi (*Total Suspended Solid*), dan bau. Suhu mencapai 40oC-46oC, kekeruhan 535-585 FTU, warna 2.225-2.250 Pt.Co, TSS 4743 mg/l, dan bau agak masam. Karakteristik kimia meliputi bahan organik, bahan anorganik, dan gas. Kadar amonia dalam limbah cair tahu sebesar 23,3-23,5 mg/l, kadar BOD5 6.000-8.000 mg/l, COD 7.500-14.000 mg/l, dan pH sebesar 4,5-5 (Algadrie, 2002; Herlambang, 2002; Husin, 2008; Sugiharto, 1987; Warisno dan Dahana, 2009). Karakteristik biologis pada limbah cair misalnya berupa mikroorganisme seperti virus (Chandra, 2005). Beberapa mikroorganisme terlibat dalam pemecahan senyawa kompleks menjadi metana diantaranya bakteri, jamur dan protozoa. Meskipun juga terdapat jamur dan protozoa, bakteri tetap merupakan mikroorganisme paling dominan yang bekerja dalam proses penguraian anaerobik (Herlambang, 2002).

### 3. METODOLOGI PENELITIAN

#### 3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya Malang yang dimulai pada bulan Maret sampai dengan bulan Agustus 2018.

#### 3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC), tabung reaksi, bunsen, *autoclave*, jarum Ose, botol media, mikroskop, gelas ukur, cawan petri, panci, baskom, kompor listrik, timbangan analitik, pinset, *erlenmeyer*, *cork borer*, pisau, pipet tetes, mikropipet, penggaris, spidol, *sprayer*, gunting, *cutter*, stik L dan kamera.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah isolat bakteri dari limbah cair tahu, isolat patogen *S. rolfsii*, plastik tahan panas, aluminium foil, plastik wrap, tisu steril, aquades steril, spiritus, kertas label, media *Potato Dextrose Agar* (PDA), *Natrium Agar* (NA), kertas saring, KOH 3%, alkohol 70%, larutan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3%, Safranin, Iodin, dan Kristal violet.

#### 3.3 Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini terdiri dari beberapa tahapan dengan rincian sebagai berikut :

##### 3.3.1 Isolasi dan Purifikasi Jamur Patogen *Sclerotium rolfsii*

Pengambilan isolat jamur patogen pada kedelai dari salah satu lahan yang berada di daerah Karangploso, Malang, Jawa Timur. Isolat didapatkan dari batang tanaman kedelai yang memiliki ciri-ciri warna kecoklatan dan terlihat jamur lapisan putih atau benang miselium. Isolasi Jamur *S. rolfsii* dilakukan dengan cara memotong sampel sepanjang  $\pm 1$  cm. Kemudian potongan sampel yang berukuran  $\pm 1$  cm disterilkan dengan cara direndam ke dalam larutan NaOCl 1% selama 1 menit kemudian alkohol 70% selama 1 menit selanjutnya aquades steril sebanyak dua kali selama 1 menit. Lalu potongan sampel dikeringkan diatas tisu steril. Setelah kering, kemudian potongan ditanam pada media PDA. Inkubasi hingga koloni patogen tumbuh pada media PDA. Koloni kemudian ditumbuhkan untuk dilakukan purifikasi pada media baru sampai mendapatkan biakan murni. (Muhibuddin *et al.*, 2011; Muhibuddin *et al.*, 2018; Shofiana *et al.*, 2015; Aliah *et al.*, 2015; Pasaribu *et al.*, 2016). Purifikasi dilakukan pada setiap jamur yang memiliki morfologi makroskopis berbeda yang meliputi warna dan bentuk koloni (Tanzil *et al.*, 2015; Zuhriah *et al.*, 2016).



### 3.3.2 Pengambilan Sampel Limbah Cair Tahu

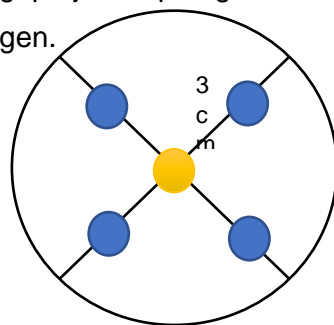
Sampel yang digunakan dalam penelitian berasal dari limbah cair tahu. Limbah cair tahu berasal dari pabrik tahu “Mana Lagi” yang berada di jl. Cokro aminoto kota Malang. Pengambilan sampel menggunakan botol dengan cara mengambil limbah cair tahu yang dibuang.

### 3.3.3 Isolasi dan Purifikasi Bakteri dari Limbah Cair Tahu

Isolasi bakteri dari limbah tahu diawali dengan pengenceran sampel limbah cair tahu dengan menggunakan *aquades* sampai  $10^{-9}$ . Kemudian diambil 0,1 ml sampel pada tiap faktor pengenceran dan selanjutnya dimasukkan ke dalam cawan petri yang telah berisi media *Nutrient Agar* (NA). Lalu diratakan dengan menggunakan *stik* L steril. Lalu menutup cawan menggunakan plastik *wrapping* untuk mencegah terjadinya kontaminasi. Sampel yang berada dalam cawan kemudian diinkubasikan pada suhu ruang selama 24 jam. Setelah 24 jam masa inkubasi, selanjutnya diamati bentuk koloni campuran yang tumbuh. Koloni yang memiliki karakteristik berbeda kemudian dipurifikasi dengan cara *streak plate* (Sastrahidayat *et al.*, 2011; Witari dan Irnia, 2016).

### 3.3.4 Seleksi Bakteri Antagonis Limbah Cair Tahu yang bersifat Antagonis terhadap Pertumbuhan Jamur Patogen *S. rolfsii*

Seleksi bakteri antagonis dilakukan untuk mengetahui bakteri yang mampu bersifat antagonis terhadap *S. rolfsii* dengan menyeleksi bakteri yang ditemukan dan diujikan terhadap jamur *S. rolfsii* pada media PDA. Seleksi dilakukan dengan cara metode biakan ganda yang dimodifikasi dalam satu cawan konfrontasi atau coculture method (Herliyana *et al.*, 2013). Isolat jamur *S. rolfsii* diinokulasikan pada media PDA dan diletakkan pada titik potong garis cawan petri, kemudian perlakuan bakteri yang ditemukan diinokulasikan dengan kertas saring seluas 0,5 cm yang dicelupkan ke suspensi perlakuan. Kertas saring ditiriskan di tisu steril selama 4 jam kemudian diletakkan pada 4 posisi mengapit jamur patogen *S. rolfsii* dengan masing-masing jarak 3 cm dari jamur patogen.



Keterangan :

- : Bakteri pada kertas saring
- : Jamur patogen *S. rolfsii*

Gambar 3. Pola penempatan seleksi bakteri antagonis dan jamur patogen pada cawan (Herliyana et al., 2013).

Persentase penghambatan dihitung dengan rumus :

$$R = \frac{r_1 - r_2}{r_1} \times 100 \%$$

Keterangan:

R : Persentase penghambatan pertumbuhan (%)

r1 : Jari-jari patogen pada kontrol (cm)

r2 : Jari-jari patogen mendekati isolat bakteri antagonis (cm)

### 3.3.5 Uji Penghambatan Pertumbuhan Jamur Patogen *S. rolfsii* dengan Bakteri Antagonis Secara *In Vitro*

Uji penghambatan dilakukan dengan menumbuhkan patogen dan bakteri antagonis dalam satu cawan petri yang berisi media PDA. *S. rolfsii* yang telah diambil dari biakan murni menggunakan *cork borer* diletakkan pada permukaan media PDA dalam cawan petri berdiameter 9 cm dengan jarak  $\pm 3$  cm dari tepi cawan. Selanjutnya satu ose bakteri antagonis digoreskan berseberangan dengan cendawan dengan jarak  $\pm 3$  cm (Gambar 5).

Penelitian secara *in vitro* menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan (6 isolat bakteri antagonis limbah cair tahu) yang masing-masing perlakuan diulang 4 kali. Rancangan perlakuan uji penghambatan jamur patogen *S. rolfsii* dapat dilihat pada (Tabel 1).

Tabel 1. Perlakuan uji penghambatan jamur patogen *S. rolfsii* secara *in vitro*.

Perlakuan	Keterangan
P1	Bakteri T3
P2	Bakteri T4
P3	Bakteri T5
P4	Bakteri T9
P5	Bakteri T10
P6	Bakteri T21

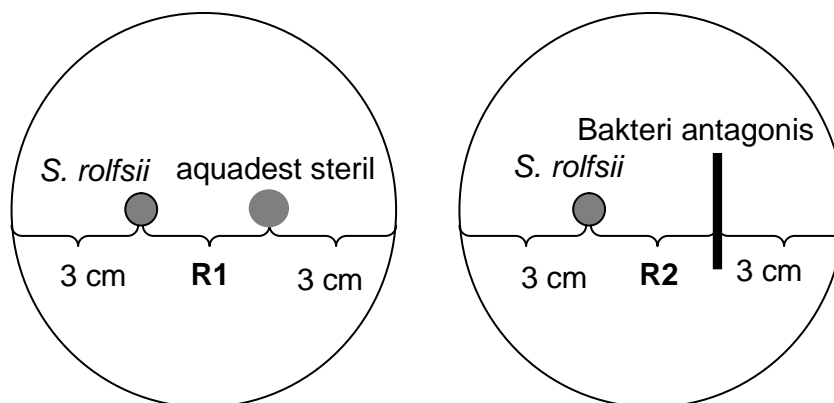
Persentase penghambatan dihitung dengan rumus yang dilaporkan oleh Ganesan *et al.* (2007) dengan modifikasi:

$$IH = \frac{R_1 - R_2}{R_1} \times 100 \%$$

IH = Persentase penghambatan pertumbuhan (%)

R1 = diameter miselia *S. rolfsii* ke arah aquades steril (kontrol)

R2 = diameter miselia *S. rolfsii* ke arah bakteri antagonis



Gambar 4. Uji penghambatan pertumbuhan patogen *S. rolfsii* secara *in vitro*

### 3.3.6 Identifikasi dan Karakterisasi Bakteri Antagonis Limbah Cair Tahu

Bakteri antagonis yang diidentifikasi berdasarkan hasil seleksi yang bersifat antagonis terhadap *S. rolfsii*. Identifikasi dan karakterisasi bakteri antagonis limbah cair tahu dilakukan berdasarkan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology Volume I* (Krieg and Holt, 1994) dan Schaad *et al.*, (2001). Metode yang digunakan adalah sebagai berikut :

#### 1. Reaksi Gram

Pengujian reaksi dengan KOH 3 %. Isolat bakteri antagonis yang berumur 24 jam diletakkan pada objek glass yang telah ditetesi 1-2 tetes larutan KOH 3%. Kemudian suspensi bakteri ditarik menggunakan jarum ose selanjutnya diamati terbentuk tidaknya lendir. Reaksi positif terjadi apabila bakteri tidak membentuk benang lendir dan reaksi negatif terjadi bila suspensi bakteri membentuk benang atau berlendir (Schaad *et al.*, 2001).

Pengujian Gram. Pengujian dilakukan dengan cara mengambil isolat bakteri antagonis yang berumur 24 jam dengan jarum ose dan dibuat suspensi dengan aquades steril diatas gelas objek yang telah disterilkan dan dikeringkan. Kemudian isolat ditetesi dengan larutan Kristal violet 5% sebanyak 2-3 tetes dan didiamkan selama 1 menit, kemudian dibilas dengan air mengalir dan dikeringkan. Selanjutnya ditetesi dengan iodine sebanyak 1-2 tetes dan didiamkan selama 1 menit yang selanjutnya dibilas dengan air mengalir dan dikeringkan. Tahap terakhir yakni isolat ditetesi dengan larutan safranin 0,1% dan didiamkan selama 30 detik kemudian dibilas dengan air mengalir selanjutnya dikering-anginkan dan diamati menggunakan mikroskop (Hadioetomo, 1993). Bakteri dengan gram positif akan menunjukkan warna ungu, sedangkan bakteri negatif akan berwarna merah (Schaad *et al.*, 2001)

Pewarnaan Spora. Isolat bakteri yang berumur 24 jam dibuat suspensi dengan aquades steril diatas gelas objek yang telah disterilkan dan dikeringkan diatas api bunsen. Kemudian tetesi dengan 2 tetes *malachite green* dan biarkan selama 10 menit lalu cuci dengan air mengalir dan kering anginkan diatas api Bunsen. Selanjutnya tetesi dengan safranin selama 1 menit, lalu cuci dengan air mengalir dan kering anginkan. Proses terakhir, amati preparat tersebut dibawah mikroskop. Pengamatan spora berupa sel bakteri berwarna merah, jika sel membentuk spora maka akan berwarna hijau (Schaad *et al.*, 2001).

## 2. Uji Oksidatif-Fermentatif

Pengujian OF dilakukan untuk mengidentifikasi isolat bakteri termasuk dalam kategori bakteri aerob atau bakteri anaerob. Perubahan warna yang terjadi pada media OF akan menentukan kategori bakteri tersebut. Apabila terjadi perubahan warna dari biru menjadi kuning pada tabung mengindikasikan positif untuk pertumbuhan anaerob (berarti terjadi fermentasi), begitu sebaliknya. Inokulasi bakteri dengan cara menusukkan bakteri dengan jarum ose pada media. Inokulasi dilakukan pada dua tabung, tabung pertama ditambahkan parafin 1 ml sebagai penutup (kondisi anaerob), tabung kedua dibiarkan tanpa parafin (kondisi aerob). Inkubasi pada suhu ruang dan pengamatan pada perubahan warna yang terjadi.

## 3. Pertumbuhan pada Media YDC

Pengujian pertumbuhan koloni kuning pada media YDC bertujuan untuk melihat koloni bakteri tumbuh pada Media YDC. Jika bakteri yang tumbuh berwarna kuning maka bakteri tergolong dalam genus *Pantoea*. Sedangkan jika bakteri yang tumbuh berwarna putih, maka bakteri tergolong dalam genus *Erwinia* (Schaad *et al.* 2001). Media YDC terdiri dari yeast ekstrak 10 gram, glukosa 20 gram,  $\text{CaCO}_3$  20 gram dan agar 15 gram yang dilarutkan dalam 1 liter aquades kemudian media disterilkan dengan autoclave. Bakteri uji digoreskan pada media YDC yang kemudian diinkubasi selama 48 jam.

## 4. Uji Katalase

Uji Katalase digunakan untuk mengetahui aktivitas katalase pada bakteri yang diuji. Uji Katalase dilakukan dengan meletakkan satu ose koloni bakteri pada objek glass. Kemudian bakteri ditetesi dengan  $\text{H}_2\text{O}_2$  3% sebanyak 1-2 tetes. Koloni positif menghasilkan enzim katalase jika dihasilkan buih.

### 5. Uji Hipersensitif

Uji hipersensitif merupakan uji yang dilakukan untuk mengetahui sifat patogenik suatu bakteri (Schaad *et al.*, 2001). Pengujian dilakukan dengan membuat suspensi bakteri dari isolat yang telah diinkubasikan 48 jam. Uji hipersensitif dilakukan pada daun tembakau muda dengan diinokulasikan pada bagian tulang daun tembakau sebanyak 1 ml. Pada perlakuan kontrol menggunakan air dan kontrol tanpa inokulasi suspensi bakteri. Jika pada bagian yang diinokulasikan suspensi bakteri terjadi nekrosis setelah diinkubasi selama 24 jam, maka bakteri tersebut bereaksi positif sebagai patogen (Masnilahs *et al.*, 2013).

### 3.4 Analisis Data

Data yang diperoleh dari pengamatan uji antagonis secara *in vitro* selanjutnya dilakukan uji keragaman data (*Analisis of Varriance*). Apabila hasil berbeda nyata maka dilanjutkan dengan uji Duncan pada taraf kesalahan 5%. Analisis data diolah menggunakan Microsoft excel 2016 dan SPSS.

